



TITLE:

# 細胞集団の状態遷移ダイナミクス に関するモデル研究

AUTHOR(S):

中島, 昭彦

---

CITATION:

中島, 昭彦. 細胞集団の状態遷移ダイナミクスに関するモデル研究. 物性研究 2007, 88(6): 881-927

ISSUE DATE:

2007-09-20

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/110876>

RIGHT:

# 細胞集団の状態遷移ダイナミクスに関するモデル研究

大阪大学大学院 生命機能研究科\* 中島 昭彦

## 目次

1	イントロダクション	882
1.1	一般的動機	882
1.2	研究の背景	882
1.3	本論文の構成	883
2	細胞集団による状態の生成とその制御	883
2.1	導入	883
2.2	相互作用による状態の生成	884
2.3	クラスター状態の制御 (1) - directional interaction -	888
2.4	クラスター状態の制御 (2) - mutual interaction -	890
2.5	ランダムネットワーク細胞分化モデル	891
2.6	まとめ	895
3	遺伝的アルゴリズムを用いた発生過程の研究	896
3.1	導入	896
3.2	モデル	897
3.2.1	発生過程	897
3.2.2	進化過程	900
3.3	結果	903
3.3.1	進化前と進化後の比較	903
3.3.2	発生ダイナミクス	906
3.3.3	遺伝子拘束数の異なる進化間での比較	914
3.4	考察	920

\*博士後期課程より所属先が以下のように変更になりました。  
 東京大学大学院 総合文化研究科 広域科学専攻 金子研究室  
 E-mail: nakajima@complex.c.u-tokyo.ac.jp

## 1 イン트로ダクション

### 1.1 一般的動機

多様、複雑な体制を持った多細胞生物の構築原理を数理的に理解したい。多様な細胞タイプが個体を構成しているわけだが、それら細胞タイプ (細胞の状態) 間の関係性という視点から多細胞集団を扱いたい。ここで、細胞タイプ間の関係性、として指している現象としては、

- 分化の全能性を持った幹細胞と完全に細胞運命の決まった分化細胞の違い、また、幹細胞から細胞運命の決定した分化細胞へ、という分化の方向性
- 造血系に見られるような、多種の細胞タイプの構成比が保たれる安定性
- 発生過程での細胞系譜

等がある。このような現象を力学系の立場から考える。

### 1.2 研究の背景

最近の生物学の動向、および生物に関する理論的な進展を概観する。

#### -技術的進展-

近年、生物学を取り巻く状況が大きく変化している。ひとつには細胞の観測技術の目覚ましい発展がある。生体内分子を可視化する蛍光マーカーの開発、顕微鏡、分光学的解析等の観測技術の発達により、細胞内分子の局在、経時的変化の定量的解析が可能になった。もうひとつには DNA チップに代表されるような網羅的な解析手法の普及が挙げられる。もともと分子生物学に代表される現代生物学は遺伝子の関係性をグラフ的に理解するという枠組みをもっていたが、上記のような実験技術の向上により、時空間ダイナミクスの解析と、各遺伝子の定量的変化といった高次元の細胞状態の記述が現実のものとなってきた。その結果、近年、生物現象を理論的に扱う研究の重要性が増してきている。

理論的方法としては、データベースを用いて、統計的解析を行うという方法がひとつ。この方向では、Alon らの network motif 研究がある [2]。もうひとつは、ダイナミカルシステムとして生物を理解するという方法がある。

#### -生物の力学系的な取り扱い-

生物の力学系的な研究は Kauffman による Boolean network を用いた研究に端を発する [25]。彼は、細胞の状態を力学系のアトラクタとしてとらえ、遺伝子数と細胞タイプ (アトラクタ) 数の関係等を議論した。近年では、一細胞系の力学系的な研究はよく行われるようになってきている。例えば、酵母の細胞周期の力学系的モデル化 [28], [40], [8] や、枯草菌の一過的細胞状態の変化を興奮系としてモデル化した研究 [37] 等を挙げることができる。

多細胞生物の発生現象の数理的な研究は、Wolpert による French Flag model [44] と Turing による反応拡散系 [39] が代表的な形態形成の理論である。これらは思想として空間連続系のモデルである。

本論文では、細胞のスケールを無視した連続系ではなく、各細胞の状態の変化に注目したとき多細胞系の振る舞いがどのように記述できるのかということを考えたいので、上記の研究とは異なり、内部自由度を持った素子(細胞)の結合系というレベルでのモデル化をする。

### 1.3 本論文の構成

本論文では、細胞集団における各細胞の状態の関係性という視点から研究を行う。

まず、細胞の状態間に関係性が出現する基本的な現象として、多細胞系での細胞分化を2章で扱う。少数自由度の力学系を用いて細胞分化のモデルを作成し、その解析を行った。一様な細胞集団から相互作用を介して細胞分化が起こる機構を説明する。また、細胞タイプが多様化した後の安定状態を、細胞間の相互作用の形式に応じて、1) 特定の細胞タイプの細胞数を一定に保つ、2) 細胞タイプの比率を一定に保つ、ことができることを示しその数理的機構を議論する。

3章では、細胞状態が階層的に変化し、より複雑な関係性をもたらす多細胞生物の発生過程を扱った。発生過程のモデルを作成し、その解析を行った結果を報告する。具体的には、遺伝的アルゴリズムによって、多数の細胞タイプをもつようにネットワーク(モデルパラメータ)を進化させ、進化後のネットワークを用いてモデルの振る舞いを解析した。その結果、モデルの発生過程での細胞状態の遷移過程の違いから、1) 細胞自律的発生、2) 調節的発生とみなせるネットワークを見出した。それらの細胞状態遷移過程の異なるネットワークの力学系的な性質について議論する。

## 2 細胞集団による状態の生成とその制御

### 2.1 導入

多細胞生物では、個々の細胞が周囲の細胞と相互作用しながら増殖や分化、形態変化を繰り返すことで、秩序だった組織や体制を構築する。細胞分化過程の研究としては、*in vitro*での観察が比較的容易であることもあり、造血系がよく研究されている [1]。造血系では、造血幹細胞と呼ばれる幹細胞から、赤血球、B細胞、T細胞等、あわせて10種類程度の細胞種が生み出される。放射線の暴露によって造血系細胞を完全に除去されたマウスに単一の造血幹細胞を移植することで、造血システムを回復できることや、貧血などにさらされると、減少した細胞種を回復するために造血細胞の分化が誘導されることが知られている。このように、造血系はひとつのシステムとして働いており、その細胞の増殖と分化は造血系全体としての恒常性を保つように調節されている。

このような多細胞系での細胞分化やその恒常性を力学系的に扱ったものに、Kanekoらの細胞分化の研究がある。Kaneko, Yomo, Furusawaらは細胞集団としての振る舞いを記述するため、

- 1) 細胞内化学反応ネットワーク
- 2) 栄養の取込による細胞の増殖
- 3) 栄養を介した細胞間相互作用

からなるモデルを導入した [22], [23], [12], [13]。

彼らはそれら一連の研究より、

- 一細胞系では単一の状態のみ存在しているところから、細胞間の相互作用による安定化を通して複数の異なる細胞タイプが形成される。(Kaneko らはこれを Isologous Diversification と名付けた)。
- 分化比率制御の実現。

といったことを見出し、これらの現象は増殖していく細胞システムの普遍的な性質であるという提唱をしている [24]。これらのモデルでは現象的には造血系で見られるような振る舞いを実現できている。

しかし、次のような点が依然未解決な問題として存在している。

- 大自由度システムを探索することによって発見法的に記述されているため、上記振る舞いに必要とされる要件が不透明
- 各要素の内部自由度が 10 を越えるようなモデルであるため、取り扱う自由度が非常に大きい系になっており力学系的な解析が困難

そこで、上記の振る舞いを示す低次元力学系の細胞分化モデルを作成する。低次元のモデルならば、その現象の力学系的な性質を議論することができる。その解析を通して、造血系にみられるような、細胞状態の多様化 (細胞分化) やその恒常性のメカニズムを議論する。

## 2.2 相互作用による状態の生成

個々の細胞が単細胞生物のように独立せず、細胞集団として何らかの機能や構造を持つ場合、例えば造血系では、同じ遺伝子を持った細胞の状態は多様化してそれぞれの分化細胞は異なる役割を果たす。細胞の分化という現象では、多くの細胞種 (分化細胞) を生み出す幹細胞と言われる細胞種と、その細胞自身は状態を変化させずに機能を担う分化細胞という区別がある。このような細胞状態間での状態変化の方向性、関係性を考える。幹細胞は細胞数が少数では一様状態であるが、細胞増殖を重ねて細胞数が大きくなると一部の幹細胞が分化を始める。複数の細胞が相互作用することで細胞分化が起こり、1 細胞とは異なる振る舞いをするという現象は community effect として知られる [19]。このような、集団の相互作用によって細胞の状態が多様化するモデルを構成した。モデルの解析を通してそのような振る舞いに必要な要件を考える。まず、以下のような、状態が 1 変数で記述される要素 (細胞)、 $N_c$  個から構成される大域結合 (All-to-All coupling) モデルを考える。

( model A (directional interaction) )

$$\tau \frac{du_i(t)}{dt} = C_u \frac{u_i^\alpha(t)}{K_u^\alpha + v^\alpha(t) + u_i^\alpha(t)} - u_i(t) + A_u \quad (2.1)$$

$$\frac{dv(t)}{dt} = C_v \sum_{i=1}^{N_c} \frac{u_i^\beta(t)}{K_v^\beta + u_i^\beta(t)} - v(t) \quad (2.2)$$

( $i$ : 細胞のインデックス、 $N_c$ : 細胞数)

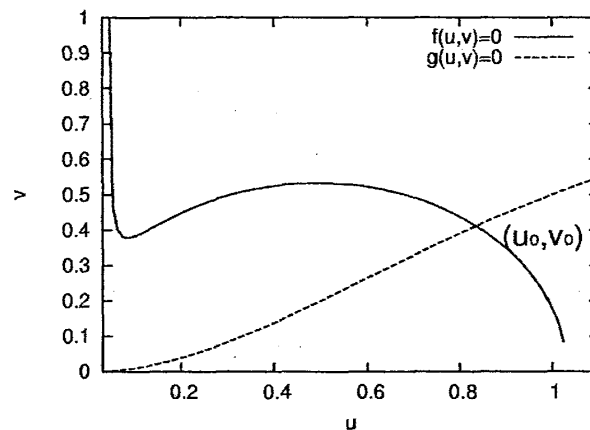


図 1: (2.1),(2.2) 式の 1 細胞系でのヌルクライン。  $C_v, K_v$  は  $C_v = 1.0, K_v = 1.0$  を用いて表示してある。数値計算で用いたパラメータとは値が異なるが、ヌルクラインの大域的な位置関係や、単一の固定点のみ存在することは変わらない。

$u_i$  は各細胞の遺伝子発現を表す。遺伝子  $u_i$  は自己フィードバックにより自身の発現を促進する<sup>1</sup>。 $v$  は細胞間のシグナル物質を表し、そのシグナル量は各細胞の状態に依存して生成される。また、 $v$  は各細胞の遺伝子発現を抑制する効果をもつ。 $C_u$  は  $u_i$  による自己の発現促進の強さ、 $C_v$  は  $u_i$  による  $v$  の放出速度を表す。 $K_u, K_v$  はそれぞれ、 $u_i$  発現促進、 $v$  シグナル放出の閾値である。 $A_u$  は細胞内の他の分子による  $u_i$  の発現促進効果を表す。 $\tau$  はシグナル  $v$  の生成崩壊に対する  $u_i$  の発現量変化のタイムスケールを意味する。今後、特に指定がない場合には、parameter は  $C_u = 1.0, K_u = 0.1, A_u = 0.04, \alpha = \beta = 2.0, \tau = 10.0, K_v = 2.0$  で考える<sup>2</sup>。single cell でのヌルクライン ( $du/dt = 0 (\equiv f(u, v)), dv/dt = 0 (\equiv g(u, v))$ ) を図 1 に示した。考慮しているパラメータ領域において 1 細胞系では、単一の固定点  $(u_0, v_0)$  をもつ。

このシステムについて細胞数を増やしたとき ( $N_c > 1$ ) の結合系としての性質を調べていく。まず、系の細胞数  $N_c$  をパラメータとして、 $N_c$  の各値での系の定常状態を観察する。それを図 2 に示す。単一細胞では、式 (2.1),(2.2) の解は図 2 の  $N_c = 1$  である。 $N_c$  を増加させていくと、 $N_c$  に依存して解が歪む。しかし、細胞数が少数の場合 ( $N_c < 50$ ) では、全細胞が単一の状態に落ち着いている。ところが細胞数が  $N_c = 50$  では解が連続的に変化して行くことで得られる  $u_i \sim 0.6$  に加え、 $u_i \sim 0$  に新たな定常状態が出現している。 $N_c > 50$  では同様に異なる 2 状態が存在する。 $N_c > 50$  で出現した状態は細胞間の相互作用によって新規な細胞状態が作られたと考えられる。また、新たな状態が生成される以前でも (細胞数  $N_c < 50$ )、細胞数の変化に依存して、細胞の状態が連続的に変化している。細胞集団の変化がまず、各細胞の状態の連続的な変化として表れている。このように、簡単なモデルを構成することによって相互作用による新規な状態の生成という現象を見出すことができた。

次に、この現象を説明するため、細胞集団として振る舞いを解析していくことにする。大

<sup>1</sup> 正確に言えば、特に単一遺伝子である必要はない。実際の細胞では、様々な遺伝子発現や代謝反応が存在するわけであるが、それを縮約して 1 変数で表現している。

<sup>2</sup>  $\alpha, \beta > 1.0$  であれば、定性的に同様の結果が得られる。

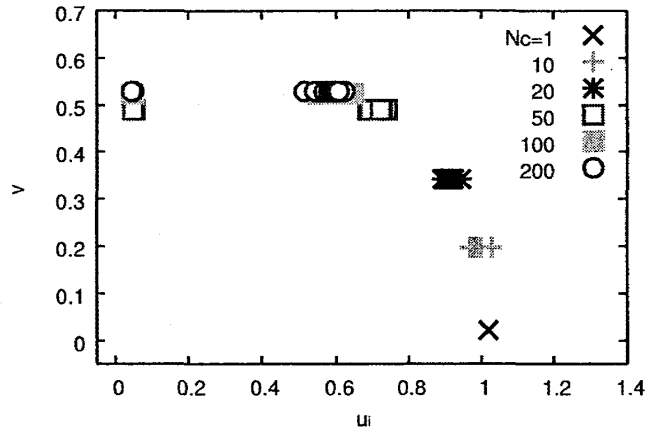


図 2: 細胞数 ( $N_c$ ) を変化させたときの各細胞の定常状態: 横軸は各細胞の状態  $u_i$ , 縦軸はそのときのシグナル濃度  $v$ . 初期条件は  $v = 0, u_i \in [0, 1]$  の一様分布でランダムに与えた。 $N_c \geq 50$  で細胞が異なる 2 状態に分かれている。ここでは、(2.1), (2.2) 式にノイズを印加して数値計算してあるために各細胞の状態が分布している。

域結合系のモデルでは、各素子が他の素子との相互作用を介することで有限個の離散的な状態をとる現象が知られており [21], [31]、その状態をクラスター状態と呼ばれている。それに倣い、本論文でも個々の細胞が異なる状態で安定化している状況を同じように呼ぶことにする。

まず、すべての細胞が同一の状態を取っているような 1 クラスター状態

$$u_i = u_{(1)}, i = 1, 2, \dots, N_c$$

の安定性から考える。

クラスター状態の安定性の解析は次のように行う [30]。まず、 $N_c$  個からなる細胞集団が、 $M$  クラスター状態 ( $u_i = u_{(k)}, k \in 1, 2, \dots, M, i = 1, \dots, N_c$ ) を取っている状況を考える。そこに新たに 1 細胞を加えたときのその細胞の振る舞いを調べる。このとき、すでにある  $N_c$  個の細胞によって作られているシグナル場  $v$  をパラメータとして固定して、1 細胞系の問題として扱う。 $N_c \rightarrow \infty$  で考えれば  $M$  クラスター状態が存在する場合には、新たに加えた細胞についても、( $u_i = u_{(k)}, k \in 1, \dots, M$ ) が解として存在しているので、それぞれの解について線形安定性解析を行うことが可能である。そして、クラスター状態を構成する解のうち、どれかひとつでも線形不安定ならばその  $M$  クラスター状態は不安定であると結論できる。

1 クラスター状態の定常解を求める。全ての細胞が同一の状態 ( $u_i = u_{(1)}, i = 1, \dots, N_c$ ) を取っているとして、式 (2.1), (2.2) を  $u$  について解くと、

$$\begin{aligned} f(u) = & A_u K_u^2 K_v^4 - K_u^2 K_v^4 u + K_v^2 (C_u K_v^2 + 2A_u K_u^2 + A_u K_v^2) u^2 \\ & - K_v^2 (2K_u^2 + K_v^2) u^3 + (2C_u K_v^2 + A_u K_u^2 + 2A_u K_v^2 + A_u C_v^2 N_c^2) u^4 \\ & - (K_u^2 + 2K_v^2 + C_v^2 N_c^2) u^5 + (C_u + A_u) u^6 - u^7 \end{aligned} \quad (2.3)$$

ここで、 $u_{(1)}, v_{(1)}$  は  $f(u_{(1)}) = 0, v_{(1)} = C_v N_c \frac{u_{(1)}^2}{K_v^2 + u_{(1)}^2}$  で表される。細胞集団は一様な定常解

$u_i = u_{(1)}, i = 1, \dots, N_c, v = v_{(1)}$  を持つ。

この1クラスター状態  $(u_{(1)}, v_{(1)})$  のもとで、新たに細胞を加え、その細胞について  $(u(t), v(t))$  に関する式を書き下すと、

$$\tau \frac{du(t)}{dt} = C_u \frac{u^2(t)}{K_u^2 + v^2(t) + u^2(t)} - u(t) + A_u \quad (2.4)$$

$$\frac{dv(t)}{dt} = C_v \frac{u^2(t)}{K_v^2 + u^2(t)} + v_{(1)} - v(t) \quad (2.5)$$

のようになる。(2.5) 式の第2項は  $(v_{(1)} = C_v N_c \frac{u_{(1)}^2}{K_v^2 + u_{(1)}^2} \propto N_c)$  のように細胞数に比例するため、シグナル場  $v$  は十分細胞数が多い場合には、(2.5) 式の (第2項)  $\gg$  (第1項) であるから新たな細胞による  $v$  の変化を無視することができる。つまり、 $C_v N_c = \text{Const.}$  に保ったまま、 $N_c \rightarrow \infty$  の極限を考えれば、

$$v(t) = v_{(1)} \quad (2.6)$$

$$\frac{du(t)}{dt} = C_u \frac{u^2(t)}{K_u^2 + v_{(1)}^2 + u^2(t)} - u(t) + A_u \quad (\equiv g(u)) \quad (2.7)$$

このように、1変数系として評価できる。(2.7) 式を  $du(t)/dt = 0$  として解いた式、

$$A_u(K_u^2 + v_{(1)}^2) - (K_u^2 + v_{(1)}^2)u + (C_u + A_u)u^2 - u^3 = 0$$

を満たす  $u$  が注目している細胞の定常状態となる。 $u = u_{(1)}$  なら、(2.3) 式、 $f(u_1) = 0$  と一致する。1クラスター状態は、 $\frac{dg(u)}{du}|_{u=u_{(1)}} < 0$  となる  $u_{(1)}$  の領域において不安定になる。この  $u$  の満たす解とその安定性を  $v_{(1)}$  に対して描くと、図3のa)のようになる。 $v_2^* < v < v_1^*$  の領域では  $u$  は双安定になっている。

1クラスター状態の解  $(u_{(1)}, v_{(1)})$  は、常に図3,a)の解曲線上に乗っている。 $v_{(1)}$  は細胞数とシグナル放出量  $(C_v N_c)$  の関数であるので、 $C_v$  一定で細胞数  $N_c$  を増加させていったとき、 $(u_{(1)}, v_{(1)})$  は図3,a)の解曲線上を左上 ( $C_v N_c \sim 0$ ) から右下 ( $C_v N_c \gg 1$ ) へむかって移動していく。細胞数が少ない状況 ( $N_c < N_1^*$ , ( $N_1^*$  は  $v_{(1)}(C_v N_1^*) = v_1^*$  を満たすような  $N_1^*$ )) では、1クラスター状態は図3のa)の上側の安定解のブランチにあるため、その状態は安定である。しかし、それ以上に細胞数を増やしていくと ( $N_c \geq N_1^*$ )、 $v_{(1)}$  は  $v_1^*$  から  $v_2^*$  にむかって変化していき、そのときの1クラスター状態の定常解は双安定の不安定解に対応する領域になる。その結果、1クラスター状態は  $N_c = N_1^*$  において不安定化することになる。 $(C_v N_c)$  に対する1クラスター状態の定常解  $u_1$  の変化とその安定性を図3のb)に示す。

今度は、一部の細胞が不安定化した状況を考える。 $v = v_1^*$  で、1クラスター状態の定常解  $u = u_{(1)}$  は中立安定なので、シグナル場を  $v = v_1^*$  に固定したとき、細胞の安定解は図3,a)の  $u \sim 0$  の下のブランチの解のみになる。この状態を  $u = u_{(2)}$  とする。1クラスター状態が  $N_c = N_1^*$  (すなわち  $v = v_1^*$ ) において不安定化し、一部の細胞が  $u = u_{(2)}$  の状態に変化したと考える。すなわち、

$$u_i = \begin{cases} u_{(1)} & (i = 1, \dots, N_{(1)}) \\ u_{(2)} & (i = N_{(1)} + 1, \dots, N_{(2)}) \end{cases} \quad (2.8)$$



であるような2クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)}) = (N_1^* - \delta N, \delta N)$  を考える。その時の  $v$  は、

$$v = C_v(N_c - \delta N) \frac{u_{(1)}^2}{K_v^2 + u_{(1)}^2} + \delta N \frac{u_{(2)}^2}{K_v^2 + u_{(2)}^2} = v_1^* - \delta N \left( \frac{u_{(1)}^2}{K_v^2 + u_{(1)}^2} - \frac{u_{(2)}^2}{K_v^2 + u_{(2)}^2} \right) < v_1^*$$

となり、 $v$  は双安定領域に留まるので、2クラスター状態が安定であることがわかる。よって、 $N > N_c$  では1細胞系では実現されない状態  $u_{(2)}$  を含んだ、2クラスター状態が実現する。

ここで示した相互作用による状態の多様化に必要な点は、細胞数に依存して相互作用のシグナル場  $v$  が変化するという点である。今の場合は  $v \propto N_c$  で、そのシグナル場の変化によって各細胞の状態の安定性が変わる。その結果、単一細胞とは異なる振る舞いが生じることになる。

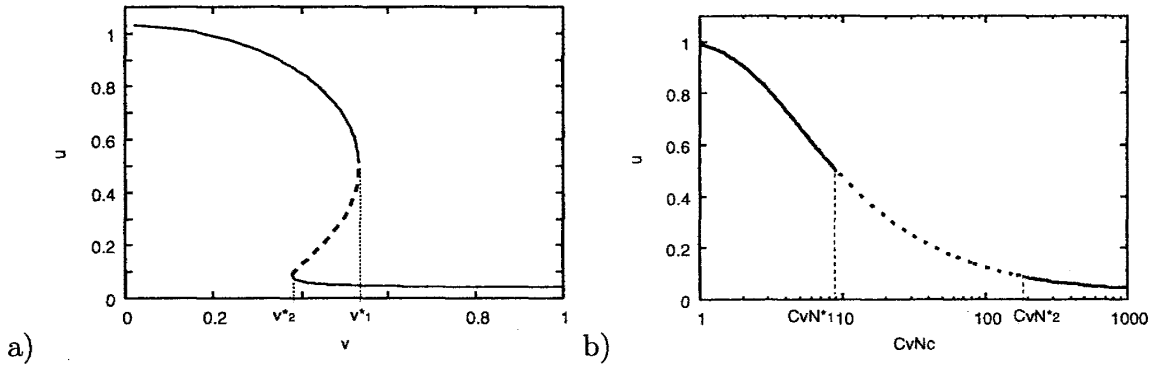


図 3:  $v$  を  $v = v_{(1)}$  に固定したときの、注目している細胞の定常解とその安定性: a) は  $v$ 、b) は  $C_v N_c$  に対する解の分岐図。実線は安定解、点線は不安定解を示す。

### 2.3 クラスター状態の制御 (1) - directional interaction -

次に、細胞集団が2クラスター状態を取っている場合について、異なる2typeの細胞の割合に注目して、その安定性を議論する。前節と同様にモデル A((2.1),(2.2) 式) を用いて、細胞のクラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)})$ ,  $(N_{(1)} + N_{(2)} = N_c)$  の細胞数比率について数値計算した結果を図 4 に示す。図 4 の a) に定常状態での  $N_{(1)}$  を、b) に  $(N_{(1)}/N_c)$  を示した。色の違いは各細胞のシグナル放出量  $C_v$  の違いを表す。場のシグナル量  $v$  は1クラスター状態では  $C_v N_c$  に比例するので、 $C_v$  が大きい方が小さい  $N_c$  で2クラスター状態に移行する。図の b) を見ると、 $N_c$  が小さい領域では、1クラスター状態が安定であるので、 $(N_{(1)}/N_c) = 1$  である。 $N_c$  が大きくなっていくと、 $u_i = u_{(1)}$  であるような細胞の比率  $(N_{(1)}/N_c)$  が減少していく。一方、a) をみればわかるように、 $N_c$  が大きい領域では  $N_{(1)}$  がほぼ一定値に保たれている。

細胞タイプ (1) の細胞数  $N_{(1)}$  が一定に保たれる機構を説明する。2クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)})$  でのシグナル場  $v$  は、

$$v = C_v N_{(1)} \frac{u_{(1)}^2}{K_v^2 + u_{(1)}^2} \left\{ 1 + \left( \frac{N_{(2)}}{N_{(1)}} \right) \frac{u_{(2)}^2 / (K_v^2 + u_{(2)}^2)}{u_{(1)}^2 / (K_v^2 + u_{(1)}^2)} \right\} \quad (2.9)$$

である。図 3 に示したように、 $C_v = \text{Const.}$  だとすると  $N_c > N_2^*$  で、1クラスター状態が再び安定化するので、 $N_c \rightarrow \infty$  で細胞タイプ (1) の細胞数  $N_{(1)}$  が一定に保たれるわけではない。

では、細胞数がどの程度の領域で、2クラスター状態が安定で、 $N_{(1)} \simeq Const.$  であると見なしてよい。 (2.9) 式の括弧内の第2項のオーダーを評価する。 $u_{(1)}, u_{(2)}$  に比べ  $K_v$  が十分大きいとすれば、式 (2.9) の括弧内第2項は  $\left(\frac{N_{(2)}}{N_{(1)}}\right) \left(\frac{u_{(2)}}{u_{(1)}}\right)^2$  となる。 $(N_{(2)}/N_{(1)}) = o((u_{(1)}/u_{(2)})^2)$  の細胞数比においては (2.9) 式は

$$v \simeq C_v N_{(1)} \frac{u_{(1)}^2}{K_v^2 + u_{(1)}^2} \quad (2.10)$$

と見なしてよい。図4の数値計算で用いたパラメータでは、 $(u_{(2)}/u_{(1)}) \simeq 0.1$  程度であるので  $(N_{(2)}/N_{(1)}) \simeq o(10^2)$  の細胞数比まで第2項を無視できる。第1項は細胞タイプ(1)のみで決まるので、これは結局、細胞タイプ(2)の影響を無視できることに他ならない。

2クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)})$  が安定であるとする、シグナル場  $v$  は

$$v_2^* < v(N_{(1)}, N_{(2)}) < v_1^* \quad (2.11)$$

を満たす。(2.10) 式の近似が成立する場合には、式 (2.11) を  $N_{(1)}$  について解くと

$$\frac{v_2^*(K_v^2 + u_{(1)}^2)}{C_v u_{(1)}^2} < N_{(1)} < \frac{v_1^*(K_v^2 + u_{(1)}^2)}{C_v u_{(1)}^2}$$

のように  $N_{(1)}$  をある一定の値に保つように安定化することがわかる。よって2クラスター状態が出現する  $N_c > N_1^*$  では  $N_{(1)} \simeq Const.$  になるよう2クラスター状態が保たれる。また、シグナル分子放出の非線形性  $\beta$  を大きくすれば、細胞数比が  $(N_{(2)}/N_{(1)}) \simeq o(10^\beta)$  まで細胞タイプ(2)の影響を無視できることになるので、この場合、細胞数の大きな変化に対しても  $N_{(1)}$  が定常に保たれることになる。細胞内化学反応では、蛋白質の協同作用や、階層的なシグナル伝達経路が存在するので  $\beta > 2$  であるような高次の非線形性は容易に実現しうる。

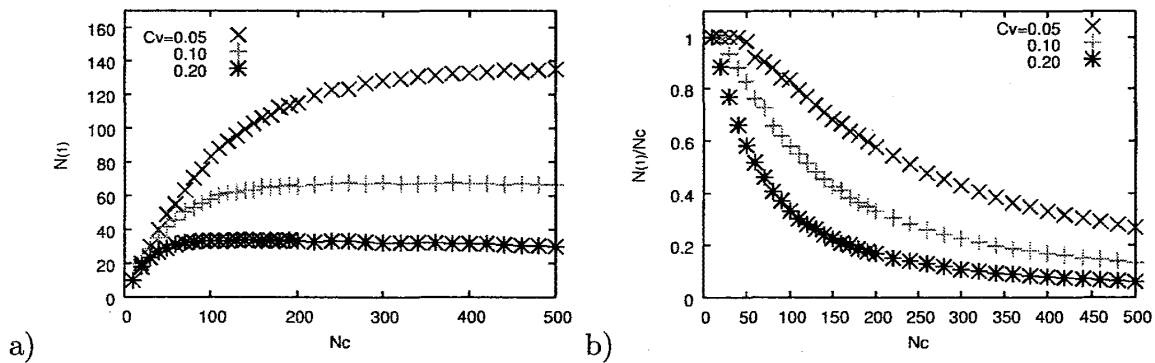


図4: (2.1),(2.2) 式での細胞集団のクラスタリング: a)  $u_i = u_{(1)}$  の細胞数 ( $N_{(1)}$ )、b)  $(u_i = u_{(1)})$  の細胞数/(全細胞数) ( $N_{(1)}/N_c$ )  $v = 0$ , 各細胞状態は  $u_i \in [0, 1]$  の一様乱数を初期条件として与え、その定常状態での2クラスター状態での各状態の細胞数 ( $N_{(1)}, N_{(2)}$ ) を求めた。各点は 30sample の平均値

## 2.4 クラスタ-状態の制御 (2) - mutual interaction -

生物学的には組織のサイズそのものよりも、細胞種間の比率を一定に保つことが重要になる状況も多く存在する。model A では細胞タイプ (1) の細胞数を一定に保つ振る舞いを示したが、本節では各細胞タイプの比率を一定にする場合を提示する。model A の細胞間相互作用を一部変更することでそれが可能になる。model A ((2.1), (2.2) 式) とは細胞間相互作用を一部改変して以下のモデルを考える。

( model B (mutual interaction) )

$$\tau \frac{du_i(t)}{dt} = C_u \frac{u_i^\alpha(t)}{K_u^\alpha + v^\alpha(t) + u_i^\alpha(t)} - u_i(t) + A_u \quad (2.12)$$

$$\frac{dv(t)}{dt} = C_{v1} \sum_{i=1}^N \frac{u_i^\beta(t)}{K_{v1}^\beta + u_i^\beta(t)} - C_{v2} v(t) \sum_{i'=1}^N \frac{K_{v2}^\beta}{K_{v2}^\beta + u_{i'}^\beta(t)} - v(t) \quad (2.13)$$

( $i$ : 細胞のインデックス、 $N_c$ : 細胞数)

parameter は  $\tau = 10.0$ ,  $C_u = 1.0$ ,  $K_u = 0.1$ ,  $A_u = 0.04$ ,  $\alpha = \beta = 2.0$ ,  $C_{v2} = 0.05$  を用いる。(2.13) の第二項が加えられた点がモデル A と異なる。モデル A, (2.2) 式では、各細胞はシグナル  $v$  の放出のみに関与していたが、モデル B, (2.13) 式では、シグナル  $v$  の放出のみでなく、各細胞の状態に依存してシグナルの分解も起こるとしていることである。生物学的には、例えば、ある細胞がシグナルを放出しながらも、細胞膜上にシグナル分子分解酵素が存在しているような状況を考えればよい。例えば、細胞性粘菌では、走化性を示すシグナル分子 cAMP を細胞外に放出する一方で細胞性粘菌の細胞膜状の cAMP 分解酵素によって cAMP を分解していることが知られている。

モデル A の場合と同様に、2 クラスタ-状態の細胞数比率を数値計算によって求めた。結果を図 5 に示す。図 5 の a) は定常状態での  $N_{(1)}$ 、b) は  $(N_{(1)}/N_c)$  である。色の違いは各細胞のシグナル放出量  $C_v$  の違いを表している。b) をみると、 $N_c$  が小さい領域では、先ほどと同様、1 クラスタ-状態のみが安定であるので、 $(N_{(1)}/N_c) = 1$  である。しかし、 $N_c$  が増大して 2 クラスタ-状態に移行すると先ほどとは異なる状況になる。先ほどは、 $N_c$  が十分大きい領域で、 $N_{(1)} \simeq \text{Const.}$  と振る舞ったのに対して、モデル B では、 $N_c$  の増大に対して細胞の比率  $(N_{(1)}/N_c)$  が一定に保たれていることが見て取れる。

さきほどの場合と同様にシグナル場  $v$  の各細胞タイプに対する依存性を考える。2 クラスタ-状態 ( $N_{(1)}, N_{(2)}$ ) が実現しており、かつ  $N_{(1)}, N_{(2)} \gg 1$  であるような状況において  $v$  は次の様に書き下せる。

$$v = \frac{\frac{\alpha_1 C_{v1}}{\beta_1 C_{v2}} \left( \frac{\alpha_2}{\alpha_1} + \frac{N_{(1)}}{N_{(2)}} \right)}{\frac{\beta_2}{\beta_1} + \frac{\beta_1 N_{(1)}}{\beta_2 N_{(2)}} + \frac{1}{C_{v2} \beta_1 N_{(2)}}} \simeq \frac{a(b + \frac{N_{(1)}}{N_{(2)}})}{c + \frac{N_{(1)}}{N_{(2)}}} \quad (2.14)$$

$\alpha_1 = \frac{u_{(1)}^2}{(K_{v1}^2 + u_{(1)}^2)}$ ,  $\alpha_2 = \frac{u_{(2)}^2}{K_{v1}^2 + u_{(2)}^2}$ ,  $\beta_1 = \frac{K_{v2}^2}{K_{v2}^2 + u_{(1)}^2}$ ,  $\beta_2 = \frac{K_{v2}^2}{K_{v2}^2 + u_{(2)}^2}$ ,  $a = \frac{\alpha_1 C_{v1}}{\beta_1 C_{v2}}$ ,  $b = \frac{\alpha_2}{\alpha_1}$ ,  $c = \frac{\beta_2}{\beta_1}$  である。(2.10) 式では、シグナル場  $v$  は細胞タイプ (1) の細胞数に依存していたのに対し、(2.14) 式では  $v$  は 2 種の細胞タイプの細胞数比に依存している。 $u$  が相安定になるための条件はモデル A の場合と同じく、(2.11) 式であらわせるが、今の場合、2 クラスタ-状態に課

される条件は

$$\frac{ab - cv_2^*}{v_2^* - a} < \frac{N_{(1)}}{N_{(2)}} < \frac{ab - cv_1^*}{v_1^* - a} \quad (2.15)$$

となる。つまり、モデルBでは特定の細胞タイプの細胞数ではなく、二種類の細胞タイプの細胞数比率を一定に保つようなクラスター状態が実現する。

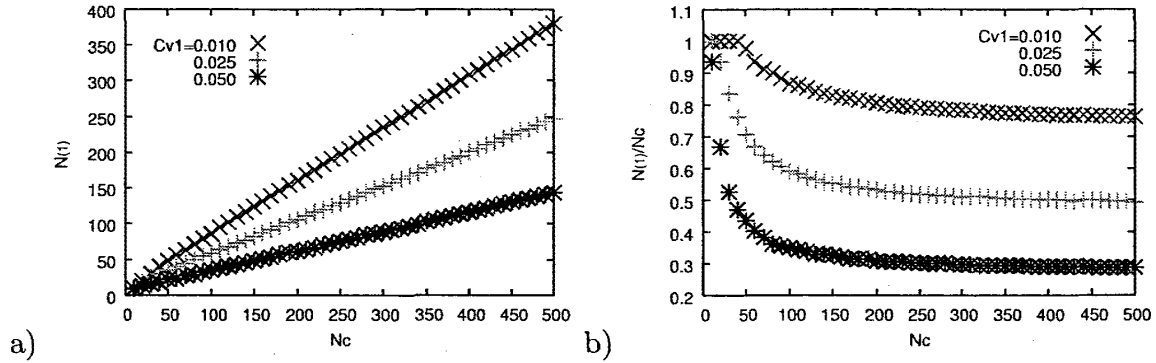


図 5: (2.12),(2.13) 式での細胞集団のクラスタリング: a)  $u_i = u_{(1)}$  の細胞数 ( $N_{(1)}$ )、b)  $(u_i = u_{(1)})$  の細胞数/(全細胞数) ( $N_{(1)}/N_c$ )  $v = 0$ , 各細胞状態は  $u_i \in [0, 1]$  の一様乱数を初期条件として与え、その定常状態での 2 クラスター状態での各状態の細胞数 ( $N_{(1)}, N_{(2)}$ ) を求めた。各点は 30sample の平均値

## 2.5 ランダムネットワーク細胞分化モデル

ここまで、低次元モデルの構成とその解析を通して、シグナル場  $v$  が細胞集団に依存して変化することによって新規状態の生成が起こること、また、細胞間相互作用の形式に依存して、実現されるクラスター状態として 1) 細胞数保存、2) 細胞比率保存という異なる状態を構成できることを示し、その数理的な機構を議論してきた。本節では、前節までで説明してきたことと数理的に同様の構造が Kaneko らの細胞分化モデル [22], [23], [12], [13] に存在することを示す。

Furusawa のモデル [13] を用いて解析を行う。このモデルを便宜的にランダムネットワーク細胞分化モデルと呼ぶことにする。モデルの大枠は Kaneko らの他の細胞分化モデルでも同様であり、ここでの解析は彼らの他のモデルにも適用できる。

ランダムネットワーク細胞分化モデルは、1) 細胞内の代謝反応ダイナミクス、2) 栄養成分を介して細胞間には拡散相互作用をする、3) 栄養成分の取り込みによる細胞増殖、という枠組をもち、その発展式は以下のように与えられる。

## 〈細胞内化学反応〉

$$\frac{dx_i^{(l)}(t)}{dt} = \delta x_i^{(l)}(t) - x_i^{(l)}(t) \sum_{i=1}^M \delta x_i^{(l)}(t) \quad (2.16)$$

$$\begin{aligned} \delta x_i^{(l)}(t) = & \sum_{j,k=1}^M C_{jki} x_j^{(l)}(t) (x_k^{(l)}(t))^\alpha - \sum_{j',k'=1}^M C_{ij'k'} x_i^{(l)}(t) (x_{j'}^{(l)}(t))^\alpha \\ & + \sigma_i D (X_i - x_i^{(l)}(t)) \end{aligned} \quad (2.17)$$

## 〈細胞間相互作用 (栄養物質)〉

$$\frac{dX_i(t)}{dt} = \sigma_i D_{env} (S_i - X_i(t)) - \frac{1}{V} \sum_{m=1}^N \sigma_i D (X_i(t) - x_i^{(m)}(t)) \quad (2.18)$$

## 〈細胞増殖〉

各細胞は体積が倍になったら分裂する。栄養の流入が体積の増加に寄与するとして、

$$\int_{t_b}^t \sum_i \delta x_i^{(l)}(t') dt' \geq 1 \quad (2.19)$$

が満たされた細胞は、二つに分裂する。 $t_b$  は前回分裂した時間。このときそれぞれの細胞は  $(1 + \epsilon)x_i, (1 - \epsilon)x_i$  の化学成分をそれぞれ分配される。 $(\epsilon$  は  $(\epsilon \ll 1)$  であるような乱数)

$$\left[ \begin{array}{l} i : \text{化学成分の index} \\ l : \text{細胞の index} \\ M : \text{化学成分数} \\ N : \text{細胞数} \\ C_{ijk} : \text{化学反応ネットワークを与える反応 matrix} \\ D_{env} : \text{栄養成分 } X_i \text{ の拡散係数 (外部環境 - 細胞間の空間)} \\ D : \text{化学成分の拡散係数 (細胞間の空間 - 細胞内)} \\ V : \text{細胞と細胞外を満たす空間の体積比} \\ \sigma_i = \begin{cases} 1 (\text{膜透過性物質}) \\ 0 (\text{非透過性物質}) \end{cases} \end{array} \right]$$

$x_i^{(l)}(t)$  は  $(l)$  番目の細胞の細胞内代謝成分  $(i)$  である。 $X_i(t)$  は細胞外の環境中に存在する代謝成分  $(i)$  で、 $x_i^{(l)}$  と同じ物質。各細胞は、細胞外の  $X_i(t)$  を介して拡散相互作用している。各細胞は  $X_i(t)$  を取り込んで、それを細胞内の代謝反応によって他の代謝物質に変換することで成長する。そして物質の流入がある閾値を越えると細胞は2つに分裂する。細胞外の物質  $X_i$  は細胞増殖によって消費されるので、外部より、 $X_i$  の流入が起こるようになっている。 $X_i$  を供給する外部の物質濃度を  $S_i$  で表す。

モデルでは、細胞内の化学反応ネットワークや細胞分裂による自由度の増大等が絡み合っているが、ここでは、栄養物質 ( $\sigma_i = 1$  の細胞内と細胞外を拡散する化学成分) を介した細

胞間相互作用 ( $X_i$ ) の細胞数の増加に対する変化に注目する。

細胞集団が  $Q$  クラスター状態を取っている状況を考えて、 $\frac{dX_i}{dt} = 0$  として (2.18) 式を解くと<sup>3</sup>、

$$\begin{aligned} X_i &= \frac{\frac{1}{N} \sum_{m=1}^N x_i^{(m)} + \frac{1}{N} \frac{VD_{env} S_i}{D}}{1 + \frac{1}{N} \frac{VD_{env}}{D}} \\ &= \frac{\sum_{k=1}^Q R_k \tilde{x}_i^{(k)} + \frac{1}{N} \frac{VD_{env} S_i}{D}}{1 + \frac{1}{N} \frac{VD_{env}}{D}} \end{aligned} \quad (2.20)$$

$$\tilde{x}_i^{(k)} \equiv \frac{1}{N_k} \sum_{m_k} x_i^{(m_k)}, \quad (\text{和は細胞タイプ}(k) \text{に属する細胞について取る。})$$

$$R_k = (N_k/N)$$

と整理できる。 $Q$  は異なる細胞タイプの数で、 $N_k$  は細胞タイプ ( $k$ ) の細胞数、 $N$  は全細胞数、 $R_k$  は細胞タイプ ( $k$ ) の細胞数と全細胞数の比。 $\tilde{x}_i^{(k)}$  は細胞タイプ ( $k$ ) に関する代謝物質  $x_i$  の平均値。

前節までの議論と同様に、細胞数が少ないときには1クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)}) = (N, 0)$  のみ安定に存在し、ある細胞数  $N = N^*$  で、2クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)})$ ,  $(N_{(1)}, N_{(2)}) \neq 0$  が出現するという状況を考える。議論を簡単にするため栄養成分が  $X_i$  の1成分のみで、定常状態が固定点であるとする。section 2.2 での解析と同様に、1クラスター状態の安定性を1細胞系で評価すると、注目している細胞に関する式は

$$\frac{dx_j^{(l)}(t)}{dt} = f_j(x_1^{(l)}, \dots, x_M^{(l)}, X_i(N)) \quad (j \in 1, \dots, M) \quad (2.21)$$

ここで、 $f_j(x_1^{(l)}, \dots, x_M^{(l)}, X_i(N))$  は (2.16) 式の右辺を形式的に書いた。細胞数が少ないときには1クラスター状態は安定と仮定しているので、(2.21) 式の1クラスター状態に対応する固定点の Jacobian 行列の最大固有値  $\lambda_1$  は  $N \sim 1$  では  $|\lambda_1| < 0$  である。細胞数が増加すると図6のように  $X_i$  が減少する。その結果、Jacobian 行列の固有値も細胞数の関数として変化を受ける。そして、 $N > N^*$  では Jacobian 行列の最大固有値  $\lambda_1$  が  $\lambda_1 > 0$  であるような  $N^*$  が存在すれば、1クラスター状態は不安定化する。

栄養物質  $X_i$  を2種類の細胞タイプの関数  $X_i(N_{(1)}, N_{(2)})$  として書けば、1クラスター状態から2クラスター状態へ分岐する条件は、

$$X_i(N^*, 0) < X_i(N^* - \delta N, \delta N)$$

のように、2クラスター状態へ移行することで、(2.20) 式の細胞数  $N$  による  $X_i$  の減少が抑えられればよい。このときの  $X_i$  の変化を図6に示す。1クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)}) = (N, 0)$  のとき  $(\sum_{k=1}^M R_k \tilde{x}_i^{(k)} = \tilde{x}_i^{(1)})$  の  $X_i$  の細胞数に対する変化を図の実線で示す。また、1クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)}) = (0, N)$ ,  $(\sum_{k=1}^M R_k \tilde{x}_i^{(k)} = \tilde{x}_i^{(2)})$  での  $X_i$  の細胞数に対する変化を図の破線で示す。 $\tilde{x}_i^{(1)} = \text{Const.}$ 、 $\tilde{x}_i^{(2)} = \text{Const.}$ 、 $\tilde{x}_i^{(1)} < \tilde{x}_i^{(2)}$  としている。前節の model A, model B の時と同じ様に細胞数の増加に伴い、相互作用項である栄養物質の濃度  $X_i$  が変化する。 $X_i$

<sup>3</sup>一般には (2.18) 式は定常とは限らないが、後述する細胞増殖による  $X_i$  変化の方が十分大きいので、ここでの議論は一般の場合にも適用できる。

は細胞数の増加により減少する。model A, model B の場合は細胞数の増加とともに、相互作用項  $v$  が増加していた点異なるが、境界条件が細胞数により変化するという点が重要なので、ここでの議論は増減の方向にはよらず成立する。 $N < N^*$  では、1 クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)}) = (N, 0)$  のみ安定であるので、細胞数が増加するにつれて  $X_i$  は図の実線に沿って減少する。そして、 $N = N^*$  において 1 クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)}) = (N, 0)$  が不安定化するので、一部の細胞が  $x_i^{(2)}$  の状態を取る。その結果  $X_i$  は図の  $X_i(N^*, 0)$  から  $X_i(N^* - \delta N, \delta N)$  へと増加するので、 $x_i^{(1)}$  の細胞タイプが安定化して 2 クラスター状態が実現する。

その後の細胞数の増加に対する細胞タイプの細胞数の割合の振る舞い方は細胞内の代謝反応に依存する。細胞数を一定に保つ場合と細胞比が保たれる場合について簡単に例示する。まず、細胞数が一定に保たれる場合。2 クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)})$  のとき、(2.20) を

$$\begin{aligned}
 X_i^* &= \frac{R_1 \tilde{x}_i^{(1)} + R_2 \tilde{x}_i^{(2)} + \frac{1}{N} \frac{VD_{env} S_i}{D}}{1 + \frac{1}{N} \frac{VD_{env}}{D}} \\
 &= \frac{R_1 (X_i - \Delta \tilde{x}_i^{(1)}) + R_2 (X_i - \Delta \tilde{x}_i^{(2)}) + \frac{1}{N} \frac{VD_{env} S_i}{D}}{1 + \frac{1}{N} \frac{VD_{env}}{D}} \\
 &= S_i - \frac{D}{VD_{env}} N_{(i)} \left\{ \Delta \tilde{x}_i^{(1)} + \left( \frac{N_{(2)}}{N_{(1)}} \right) \Delta \tilde{x}_i^{(2)} \right\} \\
 &\quad (\Delta x_i^{(1)} = X_i^* - \tilde{x}_i^{(1)}, \Delta x_i^{(2)} = X_i^* - \tilde{x}_i^{(2)})
 \end{aligned} \tag{2.22}$$

と変形する。ここで、 $X_i^*$  は  $X_i^* = X_i(N^*, 0)$ 、1 クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)}) = (N^*, 0)$  での  $X_i$  と同じ値を取っている状況を考えている。 $\Delta x_i^{(1)} \gg \left( \frac{N_{(2)}}{N_{(1)}} \right) \Delta \tilde{x}_i^{(2)}$  が成立する場合には  $X_i^*$  は細胞タイプ (1) の細胞数  $N_{(1)}$  によって決まるので  $N_{(1)} \simeq N^*$  に保たれる。この近似は、細胞タイプ (1) に比べ、細胞タイプ (2) の増殖速度が極端に遅い場合に成立する。増殖速度は、式 (2.19) の被積分関数  $\left( \sum_i \delta x_i^{(2)}(t) = \sum_i D(X_i - x_i^{(2)}) \right)$  (単位時間あたりの体積増加率) である。

次の場合は細胞数  $N$  が  $N \gg N^*$  であれば、細胞数によらず 2 つの細胞タイプの細胞比  $(N_{(1)}/N_{(2)})$  が一定に保たれる。細胞比を一定にするために必要な条件は  $\Delta \tilde{x}_i^{(2)} < 0$ 。このとき、 $\Delta \tilde{x}_i^{(2)} = -\Delta \tilde{x}_i^{(2)'}$  として、式 (2.22) を  $N_{(2)}$  について解けば、

$$N_{(2)} = \frac{\Delta x_i^{(1)}}{\Delta x_i^{(2)'}} N_{(1)} - \frac{VD_{env}(S_i - X_i^*)}{D \Delta x_i^{(2)'}}$$

$N_{(1)}, N_{(2)} \gg 1$  であれば、第 2 項は定数だから  $N_{(2)} \propto N_{(1)}$ 、つまり 2 つの細胞タイプの比が一定になる。ただし、栄養成分  $X_i$  が 1 成分のみの場合、増殖速度は  $\sum_i \delta x_i^{(2)}(t) = \sum_i D(X_i - x_i^{(2)}) = D \Delta x_i^{(2)'}$  となる。この場合、モデルの枠組上、細胞は体積を減少させて死ぬ。そのため、条件を満たすためには栄養成分が 2 種以上存在し、増殖速度が  $\sum_i \delta x_i^{(2)}(t) > 0$  となる必要がある。

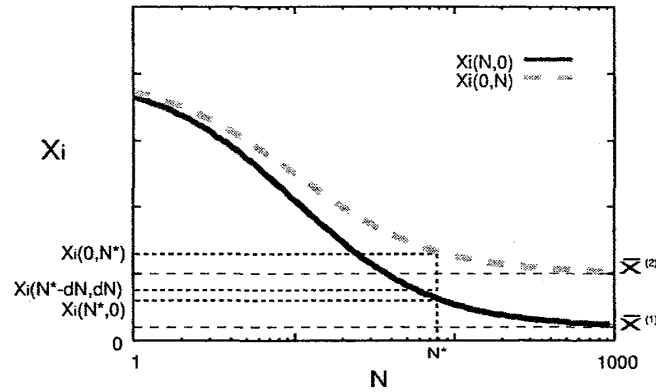


図 6: 栄養物質  $X_i$  の細胞数による変化: 1 クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)}) = (N, 0)$  のとき  $(\sum_{k=1}^M R_k \tilde{x}_i^{(k)} = \tilde{x}_i^{(1)})$  の  $X_i$  の細胞数に対する変化を実線で、また、1 クラスター状態  $(N_{(1)}, N_{(2)}) = (0, N)$ ,  $(\sum_{k=1}^M R_k \tilde{x}_i^{(k)} = \tilde{x}_i^{(2)})$  での  $X_i$  の細胞数に対する変化を破線で示した。それぞれの 1 クラスター状態が全ての細胞数で安定に存在するわけではないことに注意。

## 2.6 まとめ

低自由度の細胞分化モデルを作成した。その解析から、

- 細胞数の増加による新規細胞タイプの出現
- ある細胞タイプの細胞数を一定に制御
- 細胞タイプ間の細胞数比率を一定に制御

という振る舞いをみることができた。それらの現象が、細胞数変化がシグナル場  $v$  の変化として細胞タイプの状態および安定性を変化させることによって起こる分岐現象として理解できることを示した。そして、この数理的な構造がランダムネットワーク細胞分化モデルにおいても存在することをみた。これにより、ランダムネットワーク細胞分化モデルで見られた現象が数理的に同じように理解できることを示唆している。

本節のモデルでは、細胞間の相互作用によって各細胞の境界条件 (シグナル場  $v$ ) が与えられていた。それが細胞数の増加により変動することで細胞タイプの安定性が変化し、また、実現される細胞タイプが決まる。一方で、系に存在している細胞タイプによってその後の境界条件の変化する方向が決まるので、どの細胞タイプへ分化するかといった細胞タイプ間の関係性を記述することができた。Kauffmann のランダムブーリアンネットワークモデルのように 1 細胞の力学系のアトラクタを各細胞タイプと見た場合、造血系で見られるような細胞集団として分化細胞の比率を保つといった現象や細胞タイプ間の関係性を説明することはできなかった。本節のモデルでの分化細胞はいわば細胞内の化学反応に潜在的に埋め込まれていて、それが境界条件の変化で表出する点が単一系での細胞タイプとの描像の違いである。このように、細胞の状態を、境界条件変化の方向まで広げて考えることは重要ではないだろうか。



### 3 遺伝的アルゴリズムを用いた発生過程の研究

#### 3.1 導入

ショウジョウバエ *D. melanogaster* や線虫 *C. elegans* に代表されるように、近年の多細胞生物の発生に関する研究の進展には目を瞠るものがある。そのような研究の進展を受け、複数種での発生プロセスを比較することで、系統関係と発生の関係性を明らかにしようとする発生進化的研究がさかんになってきている [16], [5]。実験生物学者の Davidson らは、細胞の状態決定プロセスに注目して、最終的な表現型ではなく、発生過程によって生物をタイプ分けするといった試みをしている [11], [5]。そこで彼らは、細胞運命の決定の仕方や卵割様式、組織間の調節能にもとづいて、胚発生を3つのタイプに分類し、それぞれのタイプについて以下のような特徴を述べている。

タイプ1 (ほとんどの無脊椎動物の分類群に存在)

- 細胞運命の決定要因として細胞系譜が重要 (細胞自律的 (モザイク的))
- 一定の卵割パターン

タイプ2 (おもに脊椎動物)

- 細胞運命の決定には細胞間相互作用が重要 (調節的)
- 卵割パターンは変化する

タイプ3 (ショウジョウバエのような長胚型の昆虫)

- 初期胚が多核性で、細胞分裂開始前に主要なボディプランが形成される

タイプ1の典型的な発生過程をもつ生物のひとつは線虫 *C. elegans* である。*C. elegans* は初期卵割から各細胞がどのような細胞タイプになるかが明確に決まっており、その発生過程にわたる細胞系譜は完全に調べられている [38], [32]。細胞系譜が細胞運命をほぼ決定する発生過程では、細胞間相互作用とは独自に細胞内シグナルによって細胞運命が決まる。そのような細胞運命の決定プロセスは細胞自律的と呼ばれる。一方、タイプ2にはアフリカツメガエルやマウスが分類されている。タイプ2に属する胚では、不変の細胞系譜はもたず、細胞運命の決定には近接する細胞との相互作用が重要である。細胞間相互作用に強く影響される細胞運命の決定プロセスは調節的、と呼ばれる。タイプ3はショウジョウバエに代表される多核性の胚をもつ生物種で、このタイプは多細胞化する以前に体制の基本パターンの多くをつくり出す。タイプ3は発生過程が非常に特殊化したケースと考えられるので、ここではこれ以上言及しない。

タイプ1、2の主な違いは細胞運命の決定が細胞自律的か調節的かという点である。これは発生過程での細胞運命の決定プロセスとしての違いだが、古くは Waddington が epigenetic landscape という概念を導入して細胞運命の決定プロセスに関して議論している [41]。彼は、細胞を起伏のある地形をころがるボールに見立て、起伏のなだらかな丘から深い谷底へ落ちて行く過程を細胞運命の決定プロセスとみることで、発生過程を概念的にモデル化した。

Waddington 自身の描像は単一細胞に注目した議論であり、上述の発生過程のタイプを議論するためには、landscape の構造に対する細胞内シグナルと細胞間相互作用の寄与の違い、それらによって landscape がどう変化するか、まで考える必要がある。ただ Waddington がモデル化したように、細胞状態の変化をポテンシャル的、動力的視点から扱うという視点は重要である。その視点から細胞自律的、調節的発生の違いを議論することで、発生過程の俯瞰的な理解につながるのではないか。

前章では、細胞間の相互作用による細胞の分化について解析を行った。この視点からのアプローチを一般化して、発生における細胞状態の遷移過程を見ることが出来る系を構築し、各細胞状態の関係性という視点から発生という現象を考える。特に上記の2つの発生タイプ、細胞自律的か調節的か、という違いを中心に考えたい。

### 3.2 モデル

本研究で用いる、多細胞生物の発生の数理モデルの説明を行う。始めにモデルの大枠だけ与えておく。

モデルの発生過程では、内部自由度を持った各細胞が大域結合で相互作用している。そして発生過程の枠組は次のようになる。

- 系は複数の要素(細胞)(細胞数  $N_c$ ) からなり、各要素は計  $N_g$  個の遺伝子  $\vec{x} = (x_1, x_2, \dots, x_{N_g})$  を内部自由度としてもつ。
- 各細胞は自身の遺伝子発現状態および他の細胞の遺伝子発現状態によって、内部の遺伝子ダイナミクスを変化させる。
- 発生時間の経過につれ要素数が増加する(細胞の成長)。

細胞運命の決定プロセスを考えるために、発生過程で多様な細胞タイプが作られる必要がある。そのため、遺伝的アルゴリズム(GA)を用いて多様な細胞タイプを持つようにモデルパラメータを進化させる。そして、進化後のパラメータを用いて、その発生過程について解析を行う。

以下、モデルの詳細を説明する。

#### 3.2.1 発生過程

多細胞生物の成体は、筋肉、神経等の多種の細胞からなっている。体節構造、臓器の構造など、空間的にも精緻に作り上げられている。発生とは、このような構造を作り上げるためのプロセスであり、その過程でおこっている現象として以下のことが挙げられる。[5]

- 細胞分化
- 成長
- 形態形成

上記のプロセスを模して次のような枠組をもつモデルを考える。

- 系は複数の要素 (細胞)(細胞数  $N_c$ ) からなり、各要素は計  $N_g$  個の遺伝子  $\vec{x} = (x_1, x_2, \dots, x_{N_g})$  を内部自由度としてもつ。
- 各細胞は他の細胞の遺伝子発現状態によって、内部の遺伝子ダイナミクスを変化させる。
- 発生時間の経過につれ要素数が増加する (細胞の成長)。

### -遺伝子ダイナミクス-

各要素  $p$  の遺伝子  $x_i$  は発現状態によって、 $x_i = 1$ (active) か、 $x_i = 0$ (inactive) のどちらかの状態をとる。各遺伝子は、細胞内の遺伝子発現と他の細胞の遺伝子発現による発現制御を受けて毎ステップ状態を更新する。離散時間の発展をするダイナミクスでは状態の update を一様にする方法 [26] と非一様に update する方法 [9] があるが、ここでは状況を簡単にするため、全ての遺伝子が同時に状態を update するものとする。各遺伝子が次の時間ステップにどの状態をとるかの確率  $P$  は次のようになる。

$$P(x_i^n(t+1) = \sigma_i | \vec{x}^1(t), \vec{x}^2(t), \dots, \vec{x}^{N_c}(t)) = \begin{cases} f(\text{Promoter}(\vec{x}^1(t), \vec{x}^2(t), \dots, \vec{x}^{N_c}(t))) & (\sigma_i = 1) \\ 1 - f(\text{Promoter}(\vec{x}^1(t), \vec{x}^2(t), \dots, \vec{x}^{N_c}(t))) & (\sigma_i = 0) \end{cases} \quad (3.1)$$

$$\text{Promoter}(\vec{x}^1(t), \vec{x}^2(t), \dots, \vec{x}^{N_c}(t)) = \sum_j^{N_g} J_{ij} x_j^n(t) + c \sum_m^{N_c(t)} \sum_j^{N_g} J'_{ij} x_j^m(t) + \theta_i \quad (3.2)$$

$$f(x) = \begin{cases} 0 & (x < -\eta) \\ \frac{x}{2\eta} - \frac{1}{2} & (-\eta \leq x \leq \eta) \\ 1 & (x > \eta) \end{cases} \quad (3.3)$$

$$\left[ \begin{array}{l} N_c(t) : \text{発生時間 } (t) \text{ における細胞数} \\ N_g : \text{遺伝子数} \\ N_{max} : \text{最大の細胞数} \\ c : \text{細胞間相互作用の強さ} \\ \eta : \text{遺伝子発現の確率を与える関数の steepness} \\ \theta_i : \text{遺伝子発現活性化の閾値} \\ \{J_{ij}\} : \text{細胞内遺伝子ネットワーク} \\ \{J'_{ij}\} : \text{細胞間相互作用ネットワーク} \end{array} \right]$$

各パラメータの意味は上記のとおりである。各パラメータの値は、 $N_g = 8, N_{max} = 256, c = 1/(N_{max}), \eta = 0.1, \theta_i = 0 (i = 1, 2, \dots, N_g)$  を持ちいた。

各遺伝子は細胞内遺伝子ネットワーク  $\{J_{ij}\}$  と他の細胞との相互作用  $\{J'_{ij}\}$  の二種の入力により発現が制御される。細胞内、および他の細胞からの遺伝子を活性化する入力がある程度 (閾値以上) であれば次の時間 step で遺伝子の発現は active( $x_i = 1$ ) になり、閾値以下ならば inactive( $x_i = 0$ ) になる。発現を活性化 (抑制) する入力がある程度 ( $\eta$ ) 以上強ければ遺伝子

発現は決定論的に振る舞い、入力がそれ以下ならば、その入力の強さに応じて、発現状態は確率的に変化することになる。

#### -細胞数の増加-

本来の生物であれば、各細胞の内部状態および、まわりからのシグナルに依存して細胞の増殖(および死滅)が起こるわけだが、ここでは、数理的に扱いが容易であるように系の要素数の増加は遺伝子のダイナミクスとは独立に起こるものとする。細胞の増加は次のように起こる。

$$N_c(t) = \begin{cases} 1 & (0 \leq t < t_{div}) \\ N_c(t - t_{div}) + 1 & (t_{div} \leq t < N_{max}t_{div}) \\ N_{max} & (N_{max}t_{div} \leq t < t_{end}) \end{cases} \quad (3.4)$$

$$\left[ \begin{array}{l} N_c(t) : \text{発生時間 } (t) \text{ における細胞数} \\ N_{max} : \text{最大細胞数} \\ t_{div} : \text{細胞の増加間隔} \\ t_{end} : \text{発生の終了時間} \end{array} \right]$$

parameter の値は  $N_{max} = 256, t_{div} = 8, t_{end} = 2560$  を用いる。 $t = 0$  の時点では1細胞のみが存在しており、発生時間の経過につれて細胞数が増加していく。 $t_{div}$  ステップごとに1細胞ずつ増加していき、細胞数が  $N = N_{max}$  となった時点で細胞の成長は止まる。また、 $t = t_{end}$  の時点で発生は完了したものとする。細胞の成長の仕方を図8に示した。 $t_{div}$  ごとに新たに加えられる細胞には、その時点で存在する細胞の中から等確率でランダムに選択された細胞と同じ状態を与える。これは、 $t_{div}$  ごとに集団中のある1つの細胞が分裂することを意味している。

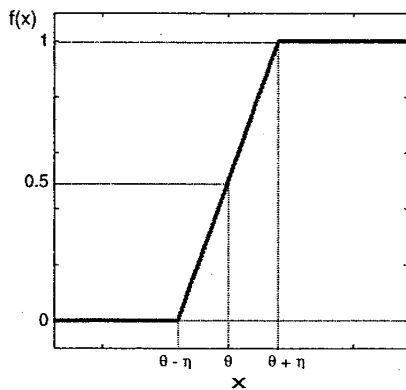


図 7: 遺伝子発現確率を与える関数  $f(x)$ :  $\theta$  は遺伝子発現が起こる閾値、 $\eta$  は steepness を表すパラメータ

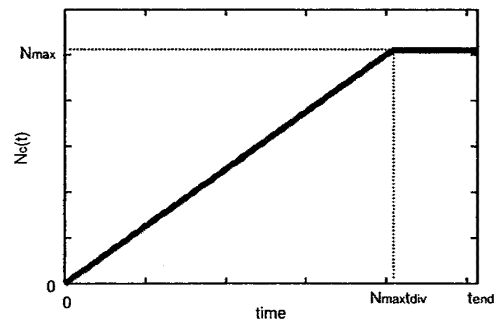


図 8: 細胞数の増加の仕方 連続的な関数で概形を与えてあるが、実際は piecewise constant な関数形をもつ。

### 3.2.2 進化過程

前節で与えたモデルを genetic algorithm(GA) を用いて進化させる。まず、選択をかける基準である fitness について説明をする。そのあとで GA の手順を説明する。

#### -fitness(適応度)-

多細胞生物の成体は体節構造、骨格系等の形態的複雑さを有し、多様な器官、臓器から構成されている。そのことによって運動、餌の消化や免疫等の高次機能を発揮している。免疫系が働くためには各種の免疫系細胞の存在が不可欠であるし、脳の高次機能は神経系細胞が存在して初めて成立する。このように多細胞生物が生存していくために必要な機能を発揮するためには、各種の多様化した細胞が必要であるといえる。一方で、多細胞生物を(細胞内自由度×細胞数)個の自由度をもつひとつの力学系として考えると、多様な細胞種が存在するということは、あるひとつの細胞についての細胞内自由度のみに注目して各細胞を記述することができるような安定な状態を各細胞がとっているということを意味している<sup>4</sup>。このように、部分空間に射影して記述可能である状態(すなわちここでは分化細胞を意味する)が数多く存在するという点は力学系として多細胞生物のひとつの特徴であるとおもわれる。そこで、このように各細胞が多様な状態をもつということを fitness として用いる<sup>5</sup>。具体的には、fitness は、1) 発生終了時の細胞タイプの数と、2) 各細胞タイプの遺伝子発現パターン、の関数となる。

#### 1) $fitness_1$ : 発生終了時の細胞タイプの数

まず、各細胞の遺伝子について、発生終了時の状態から  $T$  ステップの時間平均  $\bar{x}_i^{(n)} = \frac{1}{T} \sum_{\tau=1}^T x_i^{(n)}(t_{end} + \tau)$  をとり、それを各細胞の発生終了時の状態  $\bar{x}^{(n)} = (\bar{x}_1^{(n)}, \bar{x}_2^{(n)}, \dots, \bar{x}_{N_g}^{(n)})$  として定義する。定義した各細胞の状態間のハミング距離  $\delta d_{ij}$  を求め、 $\delta d_{ij} \geq 1$  であれば二つの細胞  $(i, j)$  は異なる状態を取っているものとする。これを全ての細胞について行い、系全体の状態数  $N_{state}$  を求める。ここで、進化で到達すべき状態数  $N_{fitness}$  を与え、最適な状態数からの差に応じて次のような fitness を与える。

$$fitness_1 = \exp \left( -\beta_N \frac{|N_{state} - N_{fitness}|}{N_{fitness}} \right) \quad (\beta_N: \text{fitness の重みを与えるパラメータ})$$

数値計算では  $N_{fitness} = 32, \beta_N = 1$  を用いた。以下に説明するように fitness は状態数と、細胞が取るべき状態からのずれ、の2つに依存する。 $\beta_N$  はこの2つの要素の fitness への寄与の重みのパラメータである。

#### 2) $fitness_2$ : 各細胞タイプの遺伝子発現パターン

現実の生物では、機能を担うためにそれぞれの細胞種は遺伝子発現様式や形態的に多様な分化を遂げる。ひとつの個体において存在するすべての細胞種について、細胞内自由度で張られた相空間でそれら細胞が占める位置関係を考えると、異なる機能を担うた

<sup>4</sup>あくまでも、個体として成立している状況で特定の細胞に注目している場合なので、本当に細胞内自由度のみで記述かは定かではない。

<sup>5</sup>自然界では、このような各細胞の状態(構造)そのものではなく、機能に対して自然選択がかかるわけであるが、現実には複雑な体制をもつ多細胞生物が存在していることから、そのような構造が何らかの優位性を持っていると考えることはできるだろう。

め、相空間上である程度離れた領域に存在していると考えられる。逆に、ほとんど同一の細胞からなる場合には、相空間のある領域に固まっている。そのような各細胞の状態の多様性を表現するために、fitness として、細胞が取るべき状態を指定する。取るべき状態は、 $\vec{T}^{(i)} = (T_1^{(i)}, \dots, T_{N_g}^{(i)})$ , ( $i \in 1, \dots, N_{fitness}$ ) ( $i$  は指定する各状態) のように遺伝子の発現パターンの形で与える。指定する状態は一つ目の fitness で指定した到達すべき状態数  $N_{fitness}$  の数だけあたえる。細胞状態の指定の拘束度、すなわち状態を指定する遺伝子の数  $N_{target}$  を決めて、その数だけ、どの遺伝子が 0, 1 どちらの状態になるべきかを進化の最初にランダムに決める。指定されない遺伝子に関しては、どちらの状態でもよいという意味で  $T_k^{(i)} = -1$  を与える。拘束を受けない遺伝子 (すなわち  $T_k^{(i)} = -1$ ) の場合には、かわりに時間的に安定な発現パターンをもっていることを要求する。そして、先ほど定義したように各細胞の状態  $\vec{x}^j$  を発生終了時に調べ、それと  $\vec{T}^i$  とのハミング距離  $\Delta D_{ij}$  に応じて fitness を与える。

拘束を受けない遺伝子 ( $T_k^{(i)} = -1$ ) について時間的な定常性を要求したのは、数値計算の簡便さからである。細胞状態を遺伝子発現の平均値 ( $\bar{x}_i^{(j)} = \frac{1}{T} \sum_{\tau} x_i^{(j)}(t_{end} + \tau)$ ) で定義しているために、 $(0, 0) \leftrightarrow (1, 1)$  と  $(1, 0) \leftrightarrow (0, 1)$  という遺伝子発現の振動状態を同じ状態として判定してしまう。そのような状態の縮退をさけるため、安定な遺伝子発現を要求した。これは、モデルの探索空間を狭めていることになるが解析を容易にするために導入した。ちなみに、 $N_{target} = 0$  の場合に関して、時間的な定常性を fitness に含まずに進化をおこなったところ同様の結果が得られており、後述する結果についてはここでの制限によらないと考えられる。

各細胞タイプの遺伝子発現パターンに対する fitness の表式は次のようになる。

〈遺伝子の拘束数 ( $N_{target} = 0$ ) の場合〉

ターゲットとなる細胞状態は ( $T_k^{(i)} = -1$ , ( $k = 1, \dots, N_g$ ), ( $i = 1, \dots, N_{fitness}$ )). すなわち、細胞の遺伝子が時間的に定常であることのみを要求していることになる。この場合、注目している細胞 ( $\vec{x}^{(j)}$ ) に関する  $\Delta D_{ij}$  は、

$$\Delta D_{ij} = \sum_k^{N_g} \min(\bar{x}_k^{(j)}, 1 - \bar{x}_k^{(j)}), \quad i = 1, \dots, N_{fitness}$$

となる。これを全ての細胞に関して平均して、細胞状態についての fitness は次のようになる。

$$fitness_2 = \exp \left[ -\frac{1}{N_{fitness}} \sum_i^{N_{fitness}} \left( \frac{1}{N_{max}} \sum_j^{N_{max}} \Delta D_{ij} \right) \right]$$

〈遺伝子の拘束がある場合 ( $N_{target} \neq 0$ )〉

ターゲット ( $\vec{T}^{(i)}$ ) と注目している細胞 ( $\vec{x}^{(j)}$ ) のハミング距離  $\Delta D_{ij}$  は

$$\begin{aligned} \Delta D_{ij} &= \Delta D_{ij}^{(1)} + \Delta D_{ij}^{(2)} \\ \Delta D_{ij}^{(1)} &= \sum_{(T_k^{(i)} = 0 \text{ or } 1 \text{ の } T_k^{(i)} \text{ について})} |\bar{x}_k^{(j)} - T_k^{(i)}| \\ \Delta D_{ij}^{(2)} &= \sum_{(T_k^{(i)} = -1 \text{ の } T_k^{(i)} \text{ について})} \min(\bar{x}_k^{(j)}, 1 - \bar{x}_k^{(j)}) \end{aligned}$$

となる。この場合には、ターゲットから最も近い細胞とのハミング距離を計って、

$$fitness_2 = \exp(-\Delta D)$$

$$\Delta D = \frac{1}{N_{fitness}} \sum_i^{N_{fitness}} \min(\Delta D_{i1}, \Delta D_{i2}, \dots, \Delta D_{iN_{max}})$$

が fitness となる。

以上まとめると、進化で用いる fitness は以下の式のように表せる。

$$\begin{aligned} fitness &= (fitness_1)(fitness_2) \\ &= \exp(-\beta_N \Delta N - \Delta D) \end{aligned} \quad (3.5)$$

$$\Delta N = \frac{|N_{state} - N_{fitness}|}{N_{fitness}} \quad (3.6)$$

$$\Delta D = \begin{cases} \frac{1}{N_{fitness}} \sum_i^{N_{fitness}} \left\{ \frac{1}{N_{max}} \sum_j^{N_{max}} \Delta D_{ij} \right\} & (N_{target} = 0) \\ \frac{1}{N_{fitness}} \sum_i^{N_{fitness}} \min(\Delta D_{i1}, \Delta D_{i2}, \dots, \Delta D_{iN_{max}}) & (N_{target} \neq 0) \end{cases} \quad (3.7)$$

$$\Delta D_{ij} = \Delta D_{ij}^{(1)} + \Delta D_{ij}^{(2)} \quad (3.8)$$

$$\Delta D_{ij}^{(1)} = \sum_{(T_k^{(i)} = 0 \text{ or } 1 \text{ の } T_k^{(i)} \text{ について})} \left| \bar{x}_k^{(j)} - T_k^{(i)} \right| \quad (3.9)$$

$$\Delta D_{ij}^{(2)} = \sum_{(T_k^{(i)} = -1 \text{ の } T_k^{(i)} \text{ について})} \min(\bar{x}_k^{(j)}, 1 - \bar{x}_k^{(j)}) \quad (3.10)$$

## -GA の手続き-

### 1). 進化 0 世代目

細胞内遺伝子ネットワーク  $\{J_{ij}\}$ 、細胞間相互作用  $\{J'_{ij}\}$  をランダムに生成する。結合度  $R_c$  の確率で  $J_{ij}, (i, j = 1, \dots, N_g)$  に値をいれる。それ以外の場合は  $J_{ij} = 0$  を与える。 $J_{ij} \neq 0$  の場合には  $J_{ij}$  に区間  $[0, 1]$  の値を一様確率でランダムに与える。 $J'_{ij}$  に関しても同様にする。始めに世代を構成するネットワーク数  $N_{net}$  個だけ生成する。また、遺伝子の拘束数に従い、最適状態数の数だけターゲット  $\vec{T}^i, (i = 1, \dots, N_{fitness})$  を生成する。

### 2). 発生過程

生成したネットワークについて、前節で説明したように発生を行わせる。発生時間  $t = 0$  での初期条件は進化を通じて同一の値  $\vec{x}_0$  を使用する。シミュレーションでは常に  $\vec{x}_0 = (0, 0, 0, 0, 1, 1, 1, 1)$  を用いた。発生終了後の最終的な系の状態に対して (3.5) 式に基づいて fitness を計算する。生成したネットワークすべてについて fitness を計算したのち、その中から fitness の大きいネットワーク上位  $N_{select}$  個だけ選択する。

### 3). 突然変異

選択したネットワークから  $N_{net}/N_{select}$  個 (選択したネットワークを次世代に使用する場合には  $N_{net}/N_{select} - 1$  個) の子孫を生成する。選択したネットワークの  $\{J_{ij}\}, \{J'_{ij}\}$  の一部の要素をランダムに選択し、その値を 1. と同じ様に乱数を与え直す。突然変異率  $\mu$  が一世

代で変化する最大要素数になる。 $\mu > 1$  の場合には  $\mu$  以下の整数を等確率でランダムに選択し、その数だけ  $J_{ij}$  の要素を突然変異させる。 $J'_{ij}$  についても同様にする。

#### 4). 進化過程

2), 3) を繰り返し行い、高い fitness をもつネットワーク  $\{J_{ij}\}, \{J'_{ij}\}$  を進化させる。

### 3.3 結果

遺伝子の拘束数  $N_{target} = 0, 2, 4$  の場合について進化を行った。

(3.3.1), (3.3.2) 節では  $N_{target} = 4$  での結果について説明し、(3.3.3) 節で、進化後のネットワークの拘束数による違いについて議論する。

#### 3.3.1 進化前と進化後の比較

本節では、進化前と進化後のネットワーク ( $\{J_{ij}\}, \{J'_{ij}\}$ ) の比較を行う。その比較を通して進化によって構成された系の性質を概観する。

##### -進化の例-

まず、進化をさせていった時の fitness の変化を図 9 に示す。

進化初期には、少数の状態数 ( $N_{state} \leq 5$ ) しか持たないが、世代を重ねるごとに状態数が増加していくのが見て取れる。fitness も同様に世代を経るごとに増加していく。用いた進化のパラメータでは、全ての進化系列で fitness  $\sim 1$  まで到達するわけではなく、状態数および fitness がある程度まで上昇したのちに、それ以上進化しなくなる系列も存在する。図にはうまく進化した例を示してある。 $N_{target} = 4$  の場合、1000 世代目までに  $fitness > 0.8$  になるネットワークの割合は 4 割程度 (379/877) であった (進化に用いるパラメータが、 $N_{net} = 500, N_{select} = 10, \mu = 5$  の場合)。 $fitness > 0.8$  であるようなネットワークを十分進化したネットワークとして、これらを用いてこの後の解析を行った。

始めに、進化によって構成された系の概要をつかむため、進化前 (ランダムに  $\{J_{ij}\}, \{J'_{ij}\}$  を生成した) のネットワークと、進化後のネットワークの違いについていくつか見てみることにする。まず、進化前と進化後のネットワークでの状態数の違いを図 10 に示した。進化前、すなわちランダムに生成したネットワークでは、ほとんどの場合、状態数は単一の状態に落ち着く。図 10 のランダムに生成した 500 ネットワークでは最大でも  $N_{state} = 3$  である。数値計算で観察した数千のネットワークに関しても  $N_{state} > 5$  であるようなネットワークはきわめて少なかった。進化後のネットワークは最適状態数  $N_{fitness} = 32$  のまわりで分布している。このように、状態数だけを取ってみても、ランダムなネットワークと進化後のネットワークには明らかな違いがある。

次に、進化前、および進化後における発生過程での各細胞の状態の変化の例を見てみる (図 11)。進化前でも、発生時間の経過につれて、細胞状態の不安定化が起こって複数回異なる状態へ遷移している。しかし異なる状態が出現するときは常にすべての細胞が状態を変化させていて状態の多様化は見られない。他の細胞からの遺伝子発現への入力 of 強さは、細胞数に比例するので発生過程での細胞状態の遷移自体は容易に起こる。これは細胞間シグナル



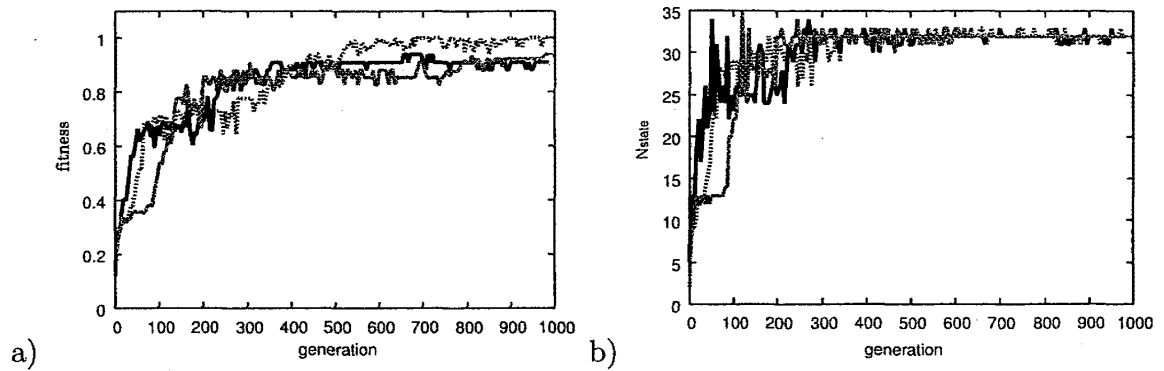


図 9: 進化時間での fitness の変化

進化の例. 進化に伴う a) fitness, b) 状態数 ( $N_{state}$ ) の変化. 異なる進化系列について重ね書きしてある. a), b) の同色は同じ進化系列に対応している. パラメータは,  $N_{net} = 500$ ,  $N_{select} = 10$ ,  $\mu = 5$ . ここに示した例では, 各世代で選択したネットワークを次世代に引き継いでいる. 世代が進んでいるのに fitness が一時的に減少することがあるのは, その時の発生過程のノイズによるもの. 発生終了時に形成される状態は確率過程での乱数に依存する. 毎世代, 一回の発生プロセスから fitness を計算しているためその影響を受ける.

の量が細胞数の関数となっていた前章のモデルと同じ理由である. これを簡単に説明しておく.

発生途中のある時間  $t$  において, 細胞状態が一様な定常状態を取っている場合, ある遺伝子への入力の高さを与える (3.2) 式は,

$$Promoter(\bar{x}^1(t), \bar{x}^2(t), \dots, \bar{x}^{N_c}(t)) = \sum_j^{N_g} \left\{ J_{ij} + \left( \frac{N_c(t)}{N_{max}} \right) J'_{ij} \right\} x_j^n(t) \quad (3.11)$$

$$= \sum_{j, (x_j^n(t)=1)} J_{ij} + \left( \frac{N_c(t)}{N_{max}} \right) \sum_{j, (x_j^n(t)=1)} J'_{ij} \quad (3.12)$$

となる. 簡単のため, (3.3) 式を  $\eta \rightarrow 0$  の step function で考えると, 発生過程において状態が変化するためには, 発生途中のある時間においてこの式の符号が反転すればよい. つまり, 状態が変化するための条件は,

$$\left( \sum_j J_{ij} + \sum_j J'_{ij}/N_{max} \right) \left( \sum_j J_{ij} + \sum_j J'_{ij} \right) < 0 \quad (3.13)$$

(ここで,  $sum$  は  $x_j^n(t=0) = 1$  となる  $j$  に関してとる)

という簡単なものなので, 進化前のネットワークでも状態の変化は容易に観測される. 発生後に多様な細胞状態を実現するためには, 細胞状態が不安定化したとき, 新たに出現した状態によって元の細胞状態が安定化する機構が必要となる点であるといえる. その最も簡単な例が前章で示したような相互作用であった. 進化によってこのような異なる状態間の関係性が積み重なっていくことで状態の多様性を実現していることになる. 図 11, b) のように進化後のネットワークの場合には発生が進むにつれ状態が段階的に分岐していく様子がみられる.

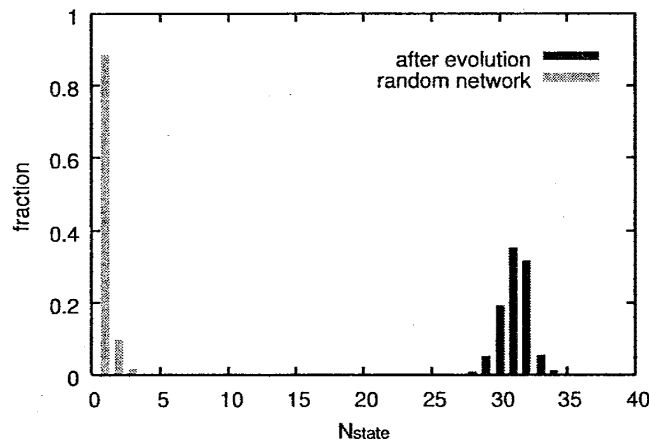


図 10: 進化による状態数の変化

進化前と進化後 ( $N_{\text{target}} = 4$ ,  $\text{Fitness} > 0.8$ ) の各ネットワークについて平均状態数を求め、各状態数を持つネットワークの割合を示した。ネットワーク数はそれぞれ、500(進化前 (random net)), 468(進化後)

#### -ネットワーク統計量-

ネットワーク統計量の違いについて進化前と進化後のネットワークを比較する。進化前と進化後の各ネットワークについて  $\{J_{ij}\}$  および  $\{J'_{ij}\}$  の非ゼロ成分の割合を図 12 に示す。細胞内の遺伝子ネットワーク ( $\{J_{ij}\}$ ) の結合度は進化前に比べ減少していることがわかる。細胞間相互作用 ( $\{J'_{ij}\}$ ) の結合度には進化前後で差は見られない。ここでは結合度  $R_c$  ( $R_c$ : ランダムに生成したネットワークでの非ゼロ成分の割合) は  $R_c = 0.5$  であるが、異なる結合度をもちいて進化を行った場合でも同様の傾向が見られた。これは細胞内遺伝子ネットワークと相互作用ネットワークへの進化圧が非対称であることを示している。ひとつの可能性として、発生過程で状態を変化させる必要があることから、細胞内遺伝子による発現制御を減少させることで外部からの入力に対する応答を上げていることが考えられる。

対角成分のみの結合度を調べた結果を図 13 に示す。進化後のネットワークの結合度について平均を取ってある。細胞内ネットワークでは、ポジティブフィードバックが、細胞間相互作用ネットワークでは、ネガティブフィードバックの割合がランダムにネットワークを生成した場合に比べて非常に多い。ポジティブフィードバックがあることで、その遺伝子の発現は双安定になるので、細胞状態が多様化するよう進化させたネットワークとしては妥当に思われる。現実の多細胞生物の遺伝子ネットワークでも、ポジティブな自己フィードバックがよく使われていることが知られている [2]。また、lateral inhibition として知られる細胞間作用によって細胞の分化が引き起こされる例では、そのシグナルを担っている Notch-Delta 系では細胞間のネガティブフィードバックによって細胞分化が引き起こされる [1]。この二つの要素を使うことで状態の多様化とその安定な制御ができるということを二章で示したわけであるが、この構造が進化を通して出現している。

活性化相互作用 ( $J_{ij}$ ,  $J'_{ij} > 0$ ) の割合について調べた結果を図 14 に示す。進化前 (random network) では、細胞内と細胞間ネットワークの活性化相互作用の割合に相関はないが、

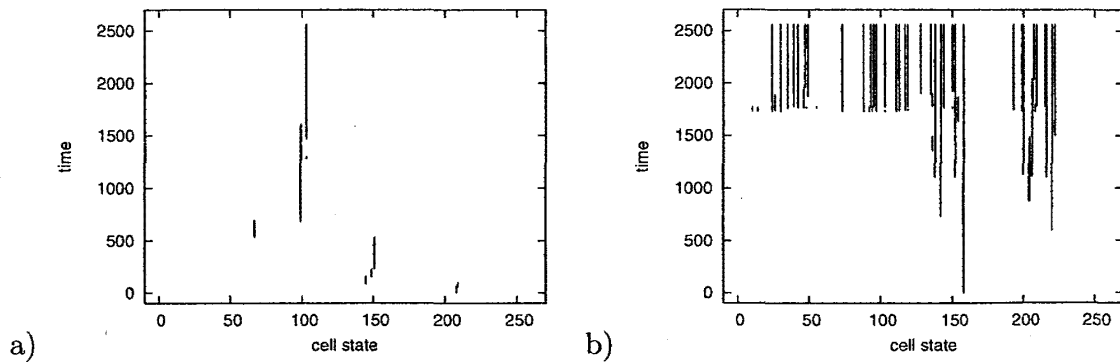


図 11: 発生過程の例: a) (進化前) ランダムに生成したネットワーク, b) 進化後のネットワークについての各細胞の状態の変化。全ての細胞について重ね書きした。発生途中については、その時点で細胞の増加をとめて遺伝子発現パターンの長時間平均をとって細胞状態の定義とした。横軸は細胞の状態遺伝子発現パターンを 10 進数表示したもの。(ex.  $\bar{x}^n = (0, 0, 0, 0, 1, 1, 1, 1) \rightarrow 15$ ),  $\bar{x}_i^n \neq 0, 1$  の場合には、 $\bar{x}_i^n \leq 0.5 \rightarrow 0, \bar{x}_i^n > 0.5 \rightarrow 1$  として表示した。

進化後のネットワークでは、細胞内と細胞間の活性化相互作用の割合に負の相関が見えている。進化後では、細胞状態が発生過程で複数回変化するので、(3.13) 式のように  $J_{ij}, J'_{ij}$  が正負逆の相互作用になるよう進化しているのだと考えられる。

### 3.3.2 発生ダイナミクス

次に、進化後のネットワークに注目して、細胞状態の変化がどのように起こっているのか、発生過程のダイナミクスについて議論する。ここでの主な結論は、1) 細胞タイプの状態遷移の多様性の違いから、細胞自律的、調節的と、異なる発生過程の特徴をもつネットワークを見出すことができた、2) 細胞自律的、調節的なネットワークの摂動に対する安定性の違いが見出された、ということである。

#### -状態遷移による発生過程の分類-

ここでは、発生過程で各細胞の状態遷移プロセスに注目して、進化後のネットワークを解析する。今、ある進化後のネットワークに注目し、発生終了時に特定の状態を取っている細胞に関して、発生途中でどのような細胞状態を経てその最終的な状態に分化してきたのかということを追う。そして、その細胞状態への分化に使われた状態遷移の経路がどれくらいあるのかを数えるということを考える。つまり、これは、注目しているネットワークの細胞運命が細胞系譜にどの程度依存しているのかを見ることに対応する。例えば、線虫 *C. elegans* のように正確な細胞系譜を持っている場合、特定の細胞種に分化する細胞の発生過程における空間的位置や遺伝子発現は常に同様のパターンを示すであろう。それに対して、調節的な発生をするカエルのような場合には最終的な分化状態に至る細胞群の発生初期での位置や細胞系譜はさまざまであろう。

この最終的な細胞状態への遷移経路の多様性を次の手順で計算する。

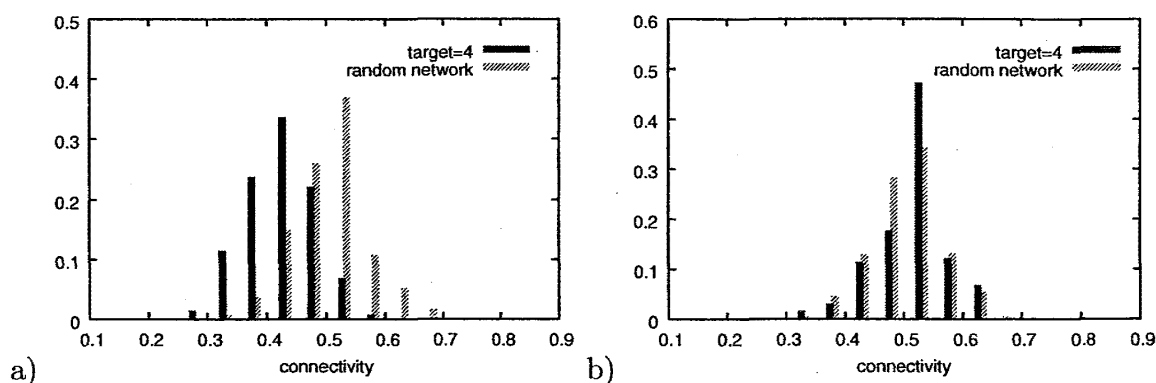


図 12: ネットワークの結合度: a) 細胞内遺伝子ネット  $\{J_{ij}\}$ , b) 細胞間相互作用  $\{J'_{ij}\}$  の  $J_{ij}(J'_{ij}) \neq 0$  であるような要素の割合について、進化前 (random network) と進化後 ( $N_{target} = 4$ ) に得られたネットワークのヒストグラムを取った。ランダムネットの結合度  $R_c$  は  $R_c = 0.5$  である。サンプル数はそれぞれ、500(random net)、131( $N_{target} = 4$ )

- 1) ある進化後のネットワークについて、発生過程での各細胞の状態遷移過程を追う。
- 2) 発生終了時の各細胞タイプについて、その状態に属している細胞群について 1) で求めた状態遷移の経路を数え上げる。
- 3) 各細胞タイプに対して遷移パスの多様性  $D_i$ ,  $i \in 1, \dots, N_{state}$  ( $N_{state}$  は発生終了時の状態数) を計算する。ある細胞タイプ ( $i$ ) に関する遷移経路の多様性  $D_i$  は次のように定義する。

$$D_i = - \sum_j \left( N^{(j)} / N^{(i)} \right) \log \left( N^{(j)} / N^{(i)} \right)$$

ここで、 $N^{(i)}$  は細胞タイプ ( $i$ ) に属する細胞数を、 $N^{(j)}$  は発生過程でのある状態遷移経路を通った細胞数を表す。例として、初期の細胞状態が  $(1, 1)$  で、 $(1, 1) \rightarrow (1, 0) \rightarrow (0, 0)$  と、 $(1, 1) \rightarrow (0, 1) \rightarrow (0, 0)$  のように 2 つの遷移経路がある場合に、状態  $(0, 0)$  の細胞への遷移多様性を考えてみる。各経路を 5 細胞ずつが通って計 10 細胞が  $(0, 0)$  状態だとすれば、 $D_i = -(5/10) \log(5/10) - (5/10) \log(5/10) = \log(2) \simeq 0.69$  となる。

このようにして、あるネットワークについて、遷移パスの多様性を計算した結果が図 15, 16 である。発生過程における各細胞の状態を図の a) に、状態遷移の多様性を b) に示してある。まず、各図 a) 太線で示したところに注目してほしい。太線で示したのはある細胞状態への遷移の経路である。図 15 では、特定の細胞状態への遷移の仕方がほぼ決まった形で進んでいることがわかる。一方で、図 16 の方では、特定の細胞状態へ至る遷移の仕方が多様に存在している。図 a) は発生過程での各細胞の状態遷移過程を重ね書きしているので、遷移経路が多様である、すなわち図 a) では太線が時間軸方向に分岐している、ことはある特定の細胞種へ最終的に分化した細胞同士においても、発生過程で辿った分化経路が異なるということを意味する。このように、細胞の遷移の多様性が異なるネットワーク、すなわち、細胞系譜を強くもつ細胞自律的に発生が進むネットワークと、はっきりした細胞系譜をもたない調節的な発生をするネットワークを得ることができた。図 15, 16, b) の、各細胞についての遷移の多様性  $D_i$  の分布をみると、確かに、遷移の仕方がほぼ決定されている場合 (図 15) には、多様性  $D_i$  の分布は 0 (その細胞への状態遷移の仕方が 1 通り) をピークに分布して

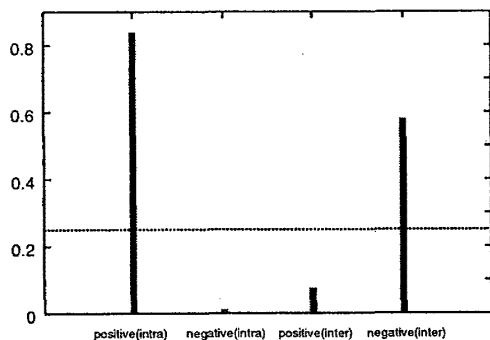


図 13: 自己フィードバックの割合: 細胞内遺伝子ネット  $\{J_{ij}\}$ 、細胞間相互作用  $\{J'_{ij}\}$  の  $J_{ij}(J'_{ij}) \neq 0$  であるような対角成分の割合 ( $N_{\text{target}} = 4$ )。点線で示したのはランダムに  $\{J_{ij}\}$  を生成したときの結合度。進化で得られたネットワークの結合度の、細胞内 (intra:  $\{J_{ij}\}$ )、細胞間 (inter:  $\{J'_{ij}\}$ ) ネットワークについてそれぞれ平均を取った。サンプル数は 131 個。

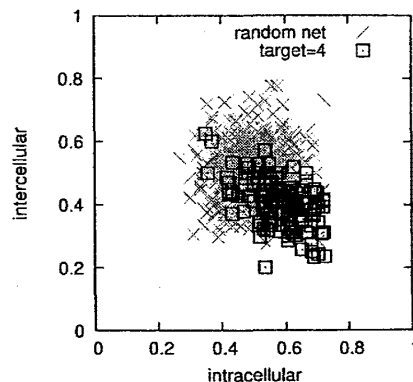


図 14: 活性化相互作用の割合: 細胞内遺伝子ネット (intracellular)  $\{J_{ij}\}$ 、細胞間相互作用 (intercellular)  $\{J'_{ij}\}$  の  $J_{ij}, J'_{ij} > 0$  であるような要素の割合を進化前 (random net)、進化後 (target=4(遺伝子拘束数=4)) の各ネットワークについて求め、プロットした。サンプル数はそれぞれ、500(random net), 131(target=4)

いるが、遷移の仕方が多様な場合 (図 16) には、多様性は ( $\sim 2$ ) 程度まで広く分布していて、図の a) の状況を定量化できている。

遷移の多様性を、進化により得られたネットワークについて求めた結果を図 17 に示す。横軸は遷移の多様性の平均値 ( $D, D = \sum_i N^{(i)} D_i$  ( $i$  は各細胞タイプ)) を表している。ちなみに図 15 のネットワークの多様性は ( $\simeq 0.13$ )、図 16 のネットワークでは ( $\simeq 1.17$ ) である。このように、遷移の多様性に違いがある多くのネットワークを得ることができた。

今度は、これらのネットワークの力学系としての大域的性質を見てみる。細胞系譜が細胞運命を決定している (細胞自律的) 発生過程をもつ生物では、初期発生時に、一部の細胞を除去してしまうと一部の組織を欠いたまま発生が進み、完全な成体を得ることができないが、調節的な発生をもつカエルのような場合には、初期胚の一部を取り除くようなことをしても、発生後には完全な成体を得ることができる [15]。これと同様に、モデルの初期条件を変化させて、その発生後の状態を通常発生での発生後の状態と比較してみる。細胞自律的、調節的な発生をもつ二つのネットワークについての振る舞いをそれぞれ観察する。通常の発生をさせた場合と、初期条件をランダムに与えた場合での最終状態の違いを調べた。図 18 が細胞自律的な発生をするネットワークの例、図 19 は調節的な発生をするネットワークの例である。図の a) は、全細胞の遺伝子発現を平均化した値  $\bar{x}$  ( $\bar{x} = (1/N_{\text{max}}) \sum_i^{N_{\text{max}}} x_i$ ) を適当な 2 つの遺伝子についてプロットしてある。b) は通常発生の状態との相同性である。通常発生との状態の比較は次のように行った。各試行の発生で実現される細胞タイプの分布を求める。それを  $2^{N_g}$  次元のベクトル  $\vec{f}$  として、通常発生で得られる細胞分布のベクトル  $\vec{f}_{\text{normal}}$  との内積を取る (本論文では  $N_g = 8$ )。参照として用いる通常発生の細胞分布は 200 回発生を行わせた平均分布を用いる。

例として  $N_g = 2$  の場合について内積を用いた終状態の比較の仕方を説明する。 $N_g = 2$

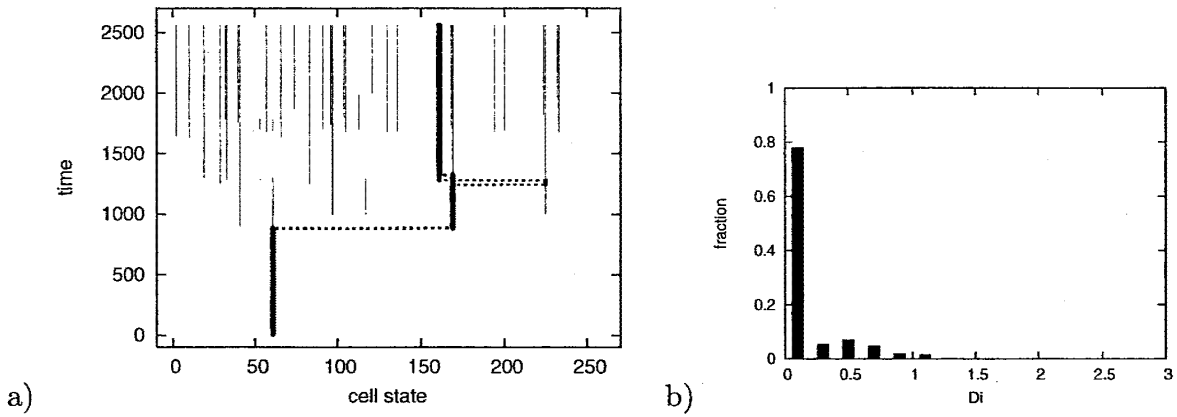


図 15: 細胞状態の遷移過程 (細胞自律的) a) 発生過程での各細胞の状態: 横軸は各細胞の遺伝子発現パターンを 10 進数表示した。縦軸は発生時間。全ての細胞の時間発展を重ね書きした。太線で示してあるのは、ある特定の細胞タイプへの状態遷移経路。 b) それぞれの細胞状態への遷移の仕方に関するヒストグラム: 横軸は遷移の多様性  $D_i$

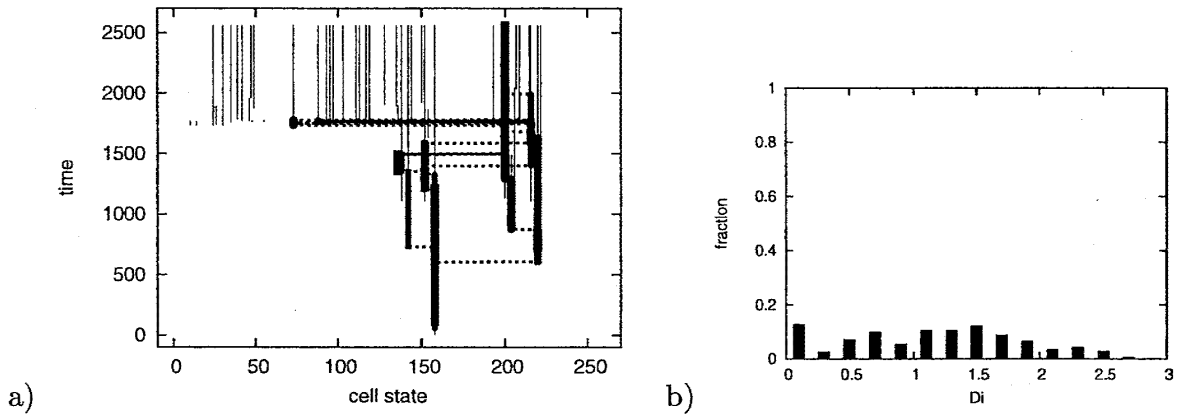


図 16: 細胞状態の遷移過程 (調節的) a) 発生過程での各細胞の状態, b) それぞれの細胞状態への遷移の仕方に関するヒストグラム

では実現可能な細胞タイプは、 $\vec{x} = (0, 0), (0, 1), (1, 0), (1, 1)$  の 4 種類である。発生の終状態はこの 4 種の細胞タイプのそれぞれと同じ遺伝子発現パターンを持つ細胞の数で決まり、それをベクトル  $\vec{f}, \vec{f} = (f_{00}, f_{01}, f_{10}, f_{11})$  と表す。 $f_{ij}$  は  $\vec{x} = (x_1, x_2) = (i, j)$ , ( $i, j \in 0, 1$ ) である細胞タイプに属する細胞の割合で、 $\|\vec{f}\| = 1$  となるよう規格化する。通常発生で、 $\vec{x} = (0, 0)$  と  $\vec{x} = (1, 1)$  の 2 種の細胞タイプが等しい割合で得られるとすれば、終状態は  $\vec{f}_{normal} = (1/\sqrt{2}, 0, 0, 1/\sqrt{2})$  となる。それに対して、発生の初期条件をランダムにしたとき  $\vec{x} = (0, 0)$  と  $\vec{x} = (0, 1)$  の 2 種の細胞タイプが等しい割合で得られたとすると、このときの終状態は  $\vec{f}_{random} = (1/\sqrt{2}, 1/\sqrt{2}, 0, 0)$  となる。通常発生の終状態との相同性は  $\vec{f}_{normal} \cdot \vec{f}_{random}$  で評価する。この例では  $\vec{f}_{normal} \cdot \vec{f}_{random} = 1/2$  となる。

細胞自律的なネットワークの例から見ていく。発生終了時での遺伝子発現の細胞平均を図 18, a) に示す。各試行の終状態における遺伝子発現の細胞平均をプロットした。通常の発生では単一の状態に集まっているが、ランダム初期条件の場合には通常の発生での状態の他に少

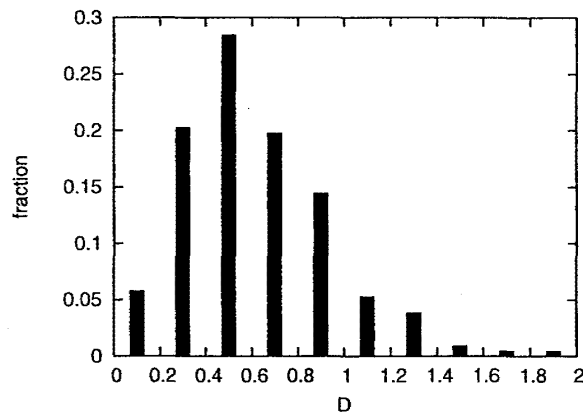


図 17: 細胞状態の遷移パスの分布: それぞれのネットワークに関して、全細胞タイプの遷移多様性  $D_i$  を平均して、 $D = \sum_i N^{(i)} D_i$  を求めた。 $D$  をネットワークごとの多様性の指標として、多数のネットワークについて  $D$  を計り、 $D$  に対するネットワークの分布を測定した。サンプル数: 207 ネットワーク

なくとも 3 つの異なるアトラクタの存在が確認できる<sup>6</sup>。通常発生の状態との内積の分布 (図 18,b)) を見てみると、通常発生と同じ状態 ( $\sim 1$ ) の割合は少なく、0.1 ~ 0.4 の通常時とは異なる終状態に落ち着く割合が多い。この細胞自律的なネットワークの例では通常発生のアトラクタのベイスンは小さく、発生がうまくいくための初期条件依存性が大きいといえる。

調節的なネットワークの場合 (図 19,a)) では、通常状態の他に一つ異なるアトラクタがあるが、内積の分布を見ると (図 19,b))、試行の多くは通常状態へ落ち着いている。つまりこのネットワークではこのアトラクタ (通常の発生で得られる状態) のベイスンが大きい。

進化で得られた多数のネットワークについて、通常発生のアトラクタのベイスンの大きさと先ほど定量化した遷移パスの多様性の関係について見てみる。それを図 20 に示す。横軸が先ほど定義した遷移の多様性 ( $D$ )、縦軸は通常発生と相同な状態が得られた試行の割合を表している。通常発生の状態との内積が  $> 0.8$  の場合に相同な状態であると判定した。図の各点はそれぞれのネットワークを表している。遷移の多様性が同程度 (ピンは 0.2、サンプル数が  $> 5$  のピンのみ線で結んだ) のネットワークについて縦軸の値を平均した値が図の点線のグラフである。遷移パスの多様性が高いネットワークほど通常発生 of ベイスンが大きい傾向がある。特に、遷移パス ( $< 0.25$ ) のネットワークと遷移パス ( $> 1$ ) の両端のネットではベイスンボリュームに明確な違いがある。このようにモデルの振る舞いにも発生の初期条件に対する安定性と細胞系譜の強さが関係することをみることができた。

細胞系譜が強いネットワークでは、通常発生で到達するアトラクタのベイスンが小さい傾向が見出されたわけであるが、これは発生初期の履歴を強くひきずる傾向があるともいえる。では、このよう履歴の強さを定量化できないだろうか。履歴の強さを示す指標として、次の量をはかる。

通常の発生過程での終状態の平均場 ( $\bar{x} = (1/N_{max}) \sum_i^{N_{max}} \bar{x}_i$ ) をパラメータとして与えて、1 細胞系の状況を考える。このシステムについて各安定状態のベイスンを計る。平均場

<sup>6</sup> このモデルでは細胞状態が多様化していることに加えて、一般に集団としてのアトラクタも複数存在している。

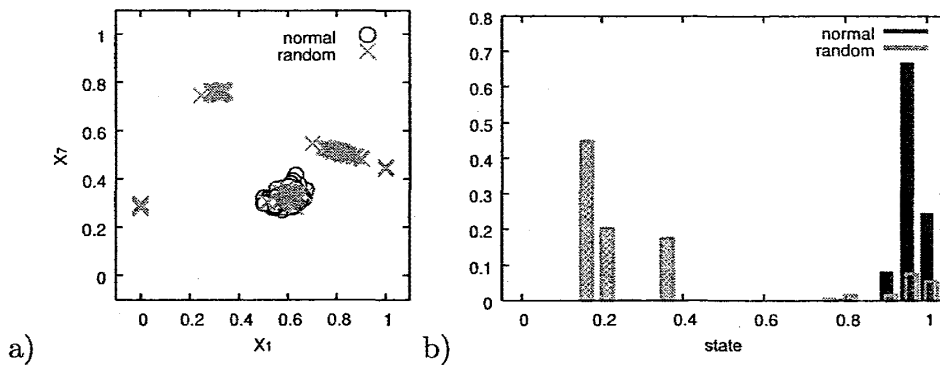


図 18: 終状態の初期条件依存性 (細胞自律的): 発生の初期条件を通常の場合 (進化で用いた初期条件  $\vec{x}(0) = (0, 0, 0, 0, 1, 1, 1, 1)$ ) と、ランダムに与えた場合について、それぞれ発生を行い、発生終了時の状態を計った。それぞれの場合について 200 回ずつ発生を行った。a) 遺伝子発現の細胞全体の平均値  $\bar{x}$ , ( $\bar{x} = (1/N_{max}) \sum_i^{N_{max}} \vec{x}_i$ ): 発生終了時の遺伝子発現の細胞集団の平均値をある 2 成分についてプロットした。b) 通常発生の状態との内積。normal は通常発生の各試行での内積。1 からずれているのは各試行によって乱数による平均分布からのずれがあるため。ネットワークの遷移多様性は  $D = 0.13$

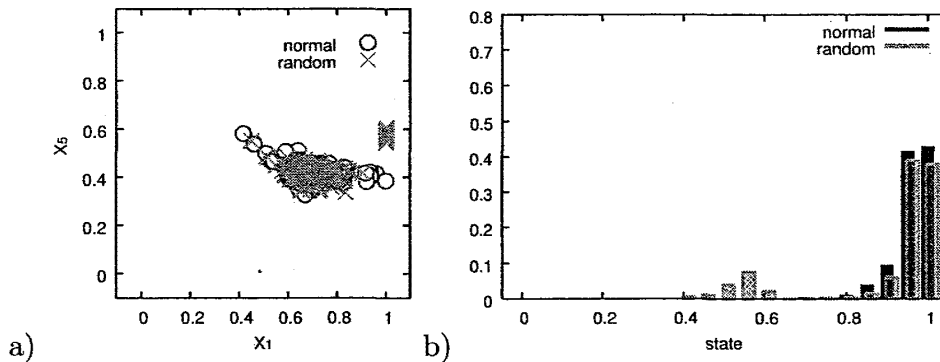


図 19: 終状態の初期条件依存性 (調節的): a) 遺伝子発現の細胞全体についての平均値 b) 通常発生の状態との内積。ネットワークの遷移多様性は  $D = 1.67$

が同じなので、通常発生で各細胞が属する状態はこの 1 細胞系のアトラクタになっているはずである。発生過程での履歴が小さいのであれば、1 細胞系各アトラクタのベイスンと同じように各細胞状態が分布し、履歴がつよいなら、発生過程で実現する分布は単一細胞系のそれとは解離した状態が実現すると考えられる。

単一細胞の各アトラクタのベイスンボリュームを仮想的な細胞集団の分布として、通常発生で得られた細胞分布との内積をとった。図 21 に示す。各点はネットワークを表し、横軸は各ネットワーク遷移パスの多様性、縦軸は内積の値である。遷移パスと内積の値に相関があるようにも見えるが、はっきりしない。

履歴現象として発生過程を取り扱うのは今後の課題である。

#### -不安定方向の変化-

細胞状態の遷移過程の違いをみてきた。ここではそのダイナミクスをみてみようと思う。こ



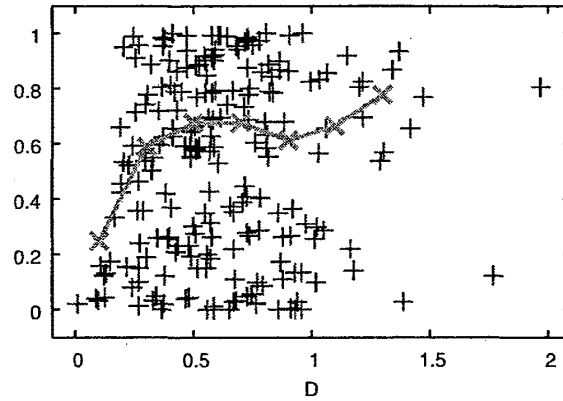


図 20: ベイسنボリュームと遷移パスの関係: 通常の発生過程で到達する状態のベイスンを計った。発生の初期条件をランダムに与えて、終状態が通常の発生とほぼ同じ状態 (内積  $> 0.8$ ) に落ち着く割合をカウントした。横軸: 遷移の多様性、縦軸: 通常発生で得られる状態との内積。また、縦軸の値について平均をとったものを重ねて書いてある。 サンプル数: 207 ネットワーク

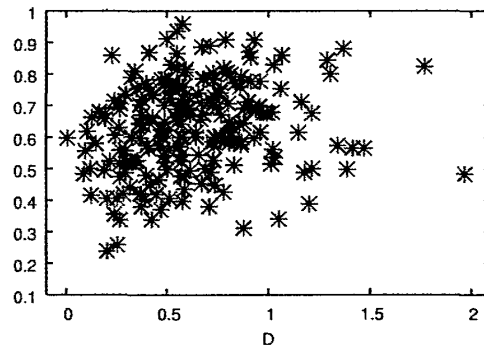


図 21: 通常の終状態での平均場を固定した場合の basin volume と発生の定常状態との内積  
サンプル数は 207 ネットワーク

のモデルでは、各遺伝子の発現確率を与える (3.3) 式

$$f(x) = \begin{cases} 0 & (x < -\eta) \\ \frac{x}{2\eta} - \frac{1}{2} & (-\eta \leq x \leq \eta) \\ 1 & (x > \eta) \end{cases}$$

がダイナミクスを決めており、注目している遺伝子への入力  $x$  が  $(-\eta \leq x \leq \eta)$  の値を跨ぐときに細胞の状態変化 (遺伝子発現変化) が起こる。逆に入力が  $(x < -\eta)$  や  $(x > \eta)$  のときは、その遺伝子発現は強く抑制、促進されている状況に対応していて状態は安定に保たれる。なので、各遺伝子への入力  $x$ 、すなわち、(3.2) 式の値がその遺伝子の安定性の指標になる。

そこで、各遺伝子発現の不安定性の指標として次の量を考える。

$$\mu_i = \exp \left( - \frac{ \left| \sum_j^{N_g} J_{ij} x_j^n(t) + c \sum_m^{N_c(t)} \sum_j^{N_g} J'_{ij} x_j^m(t) + \theta_i \right| }{ \eta } \right)$$

exponential の肩の分子は注目している遺伝子への入力である。分母は遺伝子の発現確率を与える (3.3) 式の、傾きが有限である領域の幅。あるネットワークを用いて、この指標  $\mu_i (i \in 1, \dots, N_g)$  の発生過程での変化をみた。これを図 22 に示す。横軸が発生時間で、縦軸が  $\mu_i$ 。2つの細胞についての  $\mu_i$  をプロットしている。各ラインがそれぞれの遺伝子の不安定性を示している。発生初期 ( $t \sim 0$ ) では、すべての遺伝子が安定であるが、時間が経過するにつれて、 $\mu_i$  が増大していく。各細胞の遺伝子が反転しているところを矢印で示しておいた。 $\mu_i$  がプラトーになっている値は  $\mu_i \simeq \exp(-1)$  で、ちょうど遺伝子の発現確率が変化する値に対応している。このように marginal な状況に留まるのは、前章で説明した細胞間の相互作用による安定化が働いているからである。

この  $\mu_i$  を用いて解析することは、先ほどみてきたような、細胞系譜のはっきりした発生過程をもつネットワークと調節的な発生過程を持つネットワークの力学系的性質を理解する助けになると思われる。例えば、 $\mu_i$  が marginal な状態にある遺伝子の数が各細胞の不安定性の指標になり得るだろう。

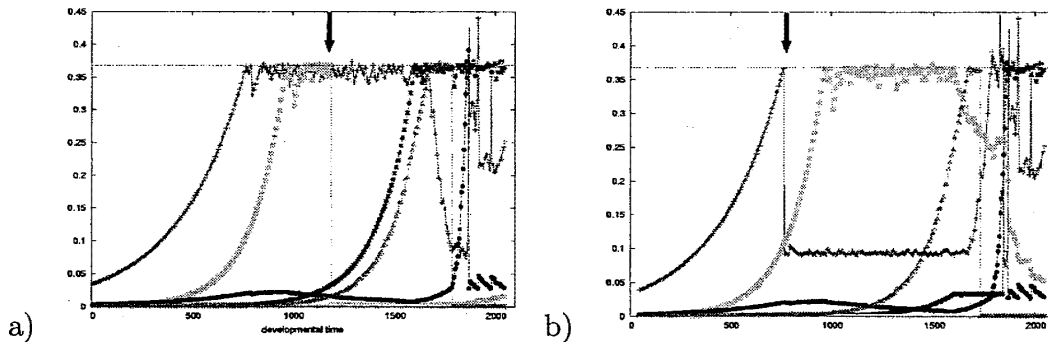


図 22: 不安定性の変化: 横軸は発生時間、縦軸は遺伝子の不安定性 ( $\mu_i, i \in 1, \dots, N_g$ )。a), b) は異なる細胞について不安定性を計った。図のそれぞれの線は異なる遺伝子についての不安定性  $\mu_i$ 。

### -表現型可塑性-

状態遷移に注目して解析してきたが、ここでは少し異なる性質をみる。解析は不十分であるが、発生過程を考える上で興味深い振る舞いを見出すことができたので、それを説明する。

あるネットワークについて、発生過程に摂動を加えたときの終状態の変化をみる。発生過程へ2種類の異なる摂動をいれ、その二つの違いをみる。まず、ひとつは遺伝子発現が揺らいでいる状況を想定して、式 (3.1) の  $f(x)$  を  $f(x + \eta_2(t))$  ( $\eta_2(t)$  は  $[-\epsilon, \epsilon], \epsilon = 0.02$  の一様乱数) に変更して、ランダムなノイズ  $\eta_2(t)$  を発生過程にわたって与える。もうひとつの摂動として、細胞の増殖速度 ( $t_{div}$ ) を変化させたときの系の状態変化をみる。

遺伝子発現にランダムノイズを加えた場合の状態の変化を図 23 に示す。図の a) は、細胞全

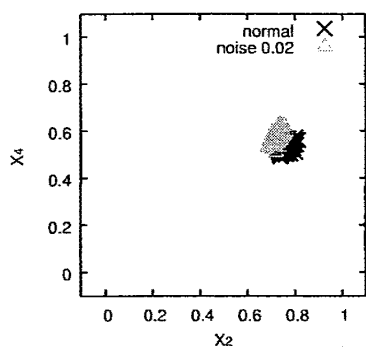
体についての遺伝子発現の平均値をある 2 遺伝子に関して示した。b) は発生させて得られた終状態 (すなわち、図 a) の各点) と、通常発生での細胞状態分布との内積を取って、その値についてのヒストグラムを描いた。通常発生、ノイズありの発生、それぞれ 200 回ずつ行った結果を示した。横軸は通常発生での終状態と各試行での終状態の内積。遺伝子発現にノイズが加わることによって遺伝子の平均値の分布がずれている。ノイズによる影響で内積は減少するが、その値はシングルピークで分布している。細胞の増加速度を大きくした場合の変化を図 24 に示す。通常発生で細胞の増殖速度 ( $t_{div}$ ) は  $t_{div} = 8$  の所を、 $t_{div} = 1$  とした場合について図に示した。遺伝子発現の平均値 (図 a)) をみると、細胞の増加速度を大きくした場合、通常発生での終状態に対応する状態と、通常発生の終状態とは異なる状態、の 2 状態が実現している。内積をみると、 $\sim 1$  にピークをもつ状態の他に、内積  $\sim 0.2$  があるのがわかる。通常発生と異なるもうひとつの状態がこれに対応する。さらに細胞の増加速度を大きくして、 $t_{div} = 1$  につき 2 細胞ずつ増加させることにすると、ほとんどの試行で通常発生とは異なるもうひとつの状態を実現し、通常発生の状態はほとんど実現されなかった。また、発生の初期条件をランダムに振って発生させることも試みたが、この状態には到達できなかった。

モデルでは、増殖は系のパラメータとして与えられているが、本来は増殖は系の状態に依存して起こるため、栄養条件や環境変化によってその速度は変化する。それによって通常発生とは異なる表現型にいたる可能性がある。増殖以外でも、このような環境変化によって表現型が変化する現象は一般に表現型可塑性と呼ばれている。ここで見出された現象もこのような表現型可塑性の例として考えられるのではないだろうか。この現象がどのようにして生じているか興味深い。発生時間のどこで、どのような細胞間相互作用に依存して通常の発生の経路が不安定化するのか、等今後解析すべき課題である。

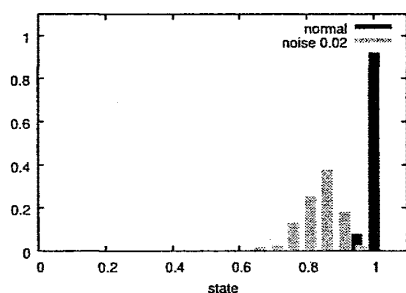
### 3.3.3 遺伝子拘束数の異なる進化間での比較

本研究で用いているモデルでは、進化の fitness として、細胞タイプの遺伝子発現パターンを遺伝子数  $N_{target}$  だけ指定して、同じ遺伝子発現をもつ細胞タイプが出現するようにしている。細胞タイプの指定遺伝子数  $N_{target}$  を大きくすると、一般に、遺伝子の発現パターンで張られた相空間上での各細胞タイプの距離が大きくなる。生物学的には、相空間での距離が離れることは各細胞タイプの性質の違いが大きくなることを意味している。そのため、遺伝子拘束数が大きい場合の進化で得られたネットワークは細胞タイプの多様性が大きく、より複雑な表現型を持っているといえる。では、表現型の複雑さが異なるとその発生過程の振る舞いにも違いは生じるのであろうか。前節までは、指定する遺伝子拘束数  $N_{target}$  を  $N_{target} = 4$  で進化させた結果について議論してきた。本節では、遺伝子の拘束数を変えて進化をさせ、進化後のネットワークの性質を比較することで表現型の複雑さと発生過程の関係を調べる。

まず、遺伝子拘束数の違う進化より得られたネットワークの性質を、ネットワーク統計量から議論する。図 13 に示したように、進化後のネットワークでは進化前のネットワークと比べ、自己フィードバックの割合が高い。遺伝子の拘束数  $N_{target}$  が  $N_{target} = 0, 2$  の場合でも同じ傾向をもつ。では、自己フィードバックが細胞タイプの多様化にどのように寄与するのか。3.3.1 節でもフィードバックの役割については触れたが、ここではもう少し詳細に議

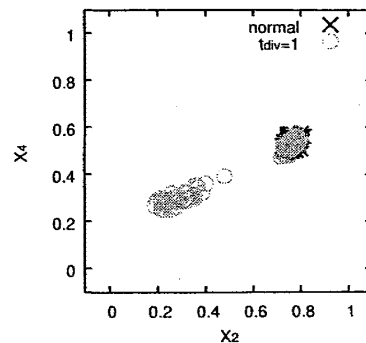


a)

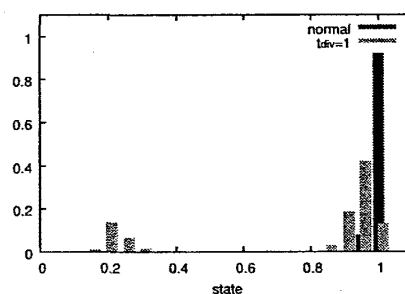


b)

図 23: ランダムノイズによる終状態の変化:  
a) 遺伝子発現の細胞全体での平均値 ( $\bar{x}_i = (1/N_{max}) \sum_j^{N_{max}} x_i^j$ ,  $i \in 1, \dots, N_g$ ) 通常発生とランダムノイズを加えた場合, それぞれ, 発生を 200 回行った. b) 通常発生との状態の近さ. 横軸は, 通常発生で得られる細胞状態の分布に対する内積. 1 に近いほど通常発生と同様の細胞タイプができています.



a)



b)

図 24: 増殖速度の変化による終状態の変化:  
a) 遺伝子発現の細胞全体での平均値 ( $\bar{x}_i = (1/N_{max}) \sum_j^{N_{max}} x_i^j$ ,  $i \in 1, \dots, N_g$ ) 発生は 200 回ずつ行った. b) 通常発生との状態の近さ. 横軸は, 通常発生で得られる細胞状態の分布に対する内積. 1 に近いほど通常発生と同様の細胞タイプができています.

論する.

はじめに, 自己フィードバックを持つという性質を使えば, 細胞の状態数を多数もつネットワークを設計することができることを示す. 簡単のため, 遺伝子数  $N_g = 2$  で, 細胞内遺伝子ネットワーク  $\{J_{ij}\}$ , 細胞間相互作用  $\{J'_{ij}\}$  が図 25,a) の様な相互作用をしている場合について考える. この場合,

$$J = \begin{bmatrix} j_{11} & 0 \\ 0 & j_{22} \end{bmatrix}, \quad J' = - \begin{bmatrix} j'_{11} & 0 \\ 0 & j'_{22} \end{bmatrix} \quad (j_{ii}, j'_{ii} > 0, (i \in 1, 2)) \quad (3.14)$$

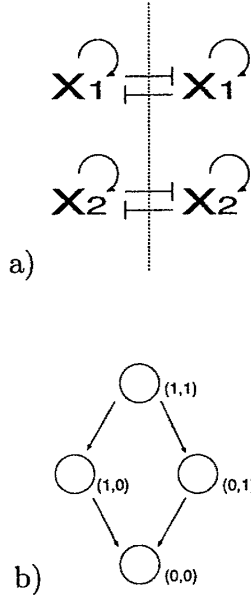


図 25: 複数の遷移パスを持つ場合: a) 遺伝子相互作用 ( $\{J_{ij}\}$  および  $\{J'_{ij}\}$ ), b) 細胞の状態遷移図 a) の真中のラインは各細胞の内側と外側を意味しており、ラインの片側の要素間の相互作用は細胞内相互作用  $J_{ij}$  を、ラインを横切る相互作用は細胞間相互作用  $J'_{ij}$  を表す。→ :活性化、+ :抑制

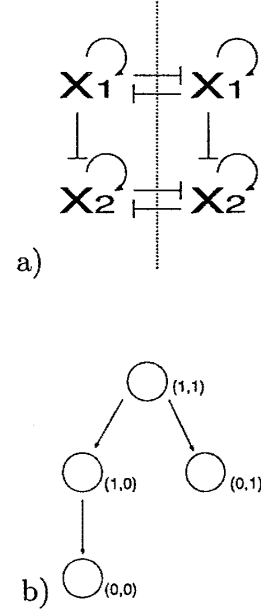


図 26: 特定の遷移パスのみを持つ場合: a) 遺伝子相互作用 ( $\{J_{ij}\}$  および  $\{J'_{ij}\}$ ), b) 細胞の状態遷移図

である。各遺伝子の時間発展を与える式 (3.1),(3.2) に上式を代入して、

$$P(x_i^n(t+1) = 1 | \vec{x}^1(t), \dots, \vec{x}^{N_c}(t)) = f \left( \sum_j^{N_g} J_{ij} x_j^n(t) + c \sum_m^{N_c(t)} \sum_j^{N_g} J'_{ij} x_j^m(t) \right) \quad (3.15)$$

$$= f \left( j_{ii} - \frac{N_c(t)}{N_{max}} j'_{ii} \right) \quad (3.16)$$

となる。状態が不安定化する条件式 (3.13) を満たすように、 $j_{ii} - (1/N_{max})j'_{ii} \geq \eta$ ,  $j_{ii} - j'_{ii} < \eta$  を仮定すると、ある細胞数  $N_c = N_i^*$  において、遺伝子  $x_i$  発現が不安定化、すなわち確率的に振る舞うようになる。これを式で表すと、

$$j_{ii} - (N_i^*/N_{max})j'_{ii} = \eta \quad (3.17)$$

$$N_i^* = (j_{ii} - \eta)N_{max}/j'_{ii} \quad (3.18)$$

細胞数が  $N_c = N_i^*$  で、遺伝子  $x_i$  の発現が不安定化して、一部の細胞の発現が抑制される。その結果、発現している他の細胞における注目している遺伝子への入力、(3.18) から、

$$j_{ii} - ((N_i^* - \delta N)/N_{max})j'_{ii} = \eta + (\delta N/N_{max})j'_{ii} > \eta \quad (3.19)$$

となり、残りの細胞の遺伝子発現は安定化するので、 $x_i = 1, x_i = 0$  と 2 種の細胞が存在する状態で安定化する。これは 2 章で説明した時と同じ状況である。このように、各遺伝子の自

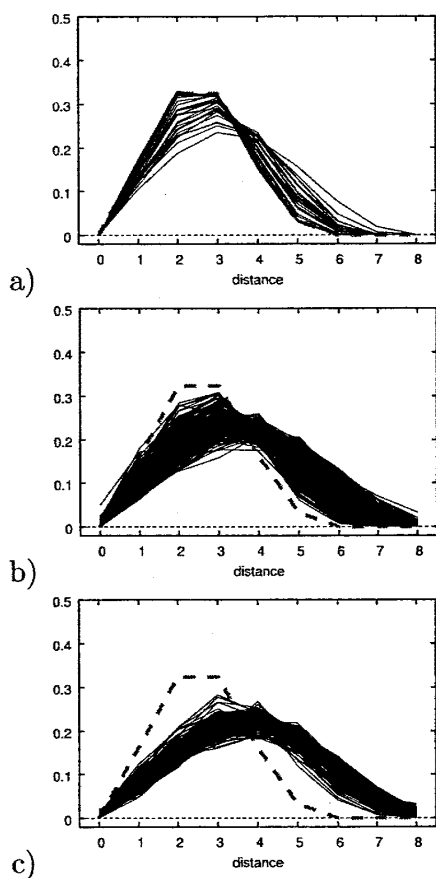


図 27: 各細胞タイプ間のハミング距離: 進化したネットワークについて、各細胞タイプ間のハミング距離を計ってその分布を示した。a)  $N_{\text{target}} = 0$ , b)  $N_{\text{target}} = 2$ , c)  $N_{\text{target}} = 4$ . 参照として、二項分布  $B(5, 1/2)$  を破線で示してある。サンプル数は a) 509, b) 206, c) 207

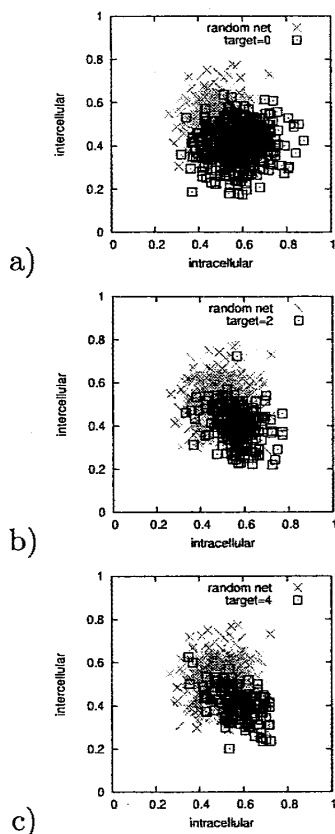


図 28: 活性化相互作用の割合: 細胞内遺伝子ネット (intracellular)  $\{J_{ij}\}$ 、細胞間相互作用 (intercellular)  $\{J'_{ij}\}$  の  $J_{ij}(J'_{ij}) > 0$  であるような要素の割合を進化前 (random net)、進化後の各ネットワークについて求め、プロットした。a)  $N_{\text{target}} = 0$ , b)  $N_{\text{target}} = 2$ , c)  $N_{\text{target}} = 4$ . サンプル数はそれぞれ、500(random net), サンプル数は a) 509, b) 206, c) 131

由度の相関が全くない状況では、遺伝子の数  $N_g$  の自由度が存在すれば、状態数  $N_{\text{state}} = 2^{N_g}$  の状態数を実現することができる。

また、状態遷移の多様性の違いは次のように作ることが可能である。  $N_1^* < N_2^*$  だとすれば、まず  $N_c = N_1^*$  の時点で  $(1, 1)$ 、 $(1, 0)$  の二種の状態が出現する。続いて、 $N_c = N_2^*$  で、 $(1, 1) \rightarrow (0, 1)$ ,  $(0, 1) \rightarrow (0, 0)$  という細胞の遷移がおこることで、 $(1, 1)$ ,  $(1, 0)$ ,  $(0, 1)$ ,  $(0, 0)$  の4状態になる。よって状態  $(0, 0)$  への遷移の仕方は  $(1, 1) \rightarrow (1, 0) \rightarrow (0, 0)$  および、 $(1, 1) \rightarrow (0, 1) \rightarrow (0, 0)$  の2つの異なる遷移が実現する。このときの状態遷移の仕方を図25に示しておく。

今度は状態遷移が決まっている例を構成してみる。相互作用として、図(26),a)のように、

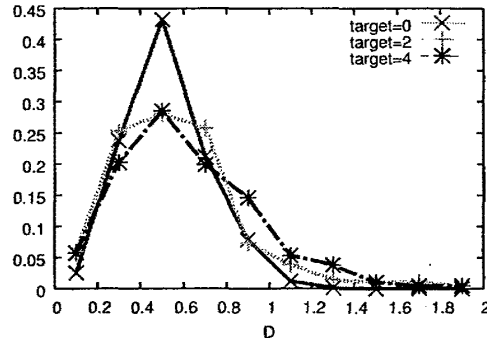


図 29: 遷移経路の多様性: 各進化で得られたネットワークの、遷移経路の多様性に関する分布を取った。 サンプル数は a) 509, b) 206, c) 207

$x_1$  から  $x_2$  への抑制効果を加えた場合を考える。

$$J = \begin{bmatrix} j_{11} & 0 \\ -j_{21} & j_{22} \end{bmatrix}, \quad J' = - \begin{bmatrix} j'_{11} & 0 \\ 0 & j'_{22} \end{bmatrix} \quad (j_{ii}, j'_{ii} > 0, j_{21} > 0, (i \in 1, 2)) \quad (3.20)$$

である。先ほどと同様に各遺伝子の時間発展式から、各遺伝子が不安定化する細胞数を求めると、

$$N_1^* = \frac{(j_{11} - \eta)}{j'_{11}} N_{max} \quad (3.21)$$

$$N_{2(1on)}^* = \frac{(j_{22} - j_{21} - \eta)}{j'_{11}} N_{max} \quad (3.22)$$

$$N_{2(1off)}^* = \frac{(j_{22} - \eta)}{j'_{22}} N_{max} \quad (3.23)$$

のようになる。 $N_{2(1on)}^*$  は遺伝子 ( $x_1 = 1$ ) の細胞において遺伝子 ( $x_2$ ) が不安定化する細胞数、 $N_{2(1off)}^*$  は遺伝子 ( $x_1 = 0$ ) の細胞において遺伝子 ( $x_2$ ) が不安定化する細胞数である。もし、 $N_1^* < N_{2(1on)}^*$ ,  $N_{2(1on)}^* < N_{max} < N_{2(1off)}^*$  を満たすならば、 $(1, 1) \rightarrow (0, 1)$ ,  $(1, 1) \rightarrow (1, 0) \rightarrow (0, 0)$  の状態遷移が起こるので、図 26, b) に示したような、特定の遷移過程のみが許される状況が実現する。

では、進化的に実現された状態は上述の場合と同様なのであろうか。今構成したような、遺伝子間の相関が(ほとんど)ない状況では、遺伝子数が  $N_g$  だけあれば、 $2^{N_g}$  個の状態をつくり出せる。この状況で、各細胞状態間のハミング距離  $D_{ij}$  ( $i \neq j$ ) を求めて、遺伝子空間のハイパーキューブ上での細胞状態散らばり具合をハミング距離についての分布で表すと、 $D_{ij} \neq 0$  では二項分布  $B(N_g, 1/2)$  に従う。進化後のネットワークの場合、発生後にはおよそ  $N_{fitness} = 32$  の状態を持っているので、これに最低必要な遺伝子数は  $N_g = 5$  であるから、進化の fitness を満たすネットワークを上述の方法で構成した場合にはハミング距離の分布は二項分布  $B(5, 1/2)$  になる。では、進化後のネットワークはどうであろうか。進化したネットワークのハミング距離の分布を計算した結果を図 27 に示す。図の a), b), c) がそれぞれ、状態の指定数  $N_{target} = 0, 2, 4$  に対応している。図には、二項分布  $B(5, 1/2)$  を破線で示した。図の a), 拘束数が  $N_{target} = 0$  の場合には大部分のネットワークが二項分布にほ

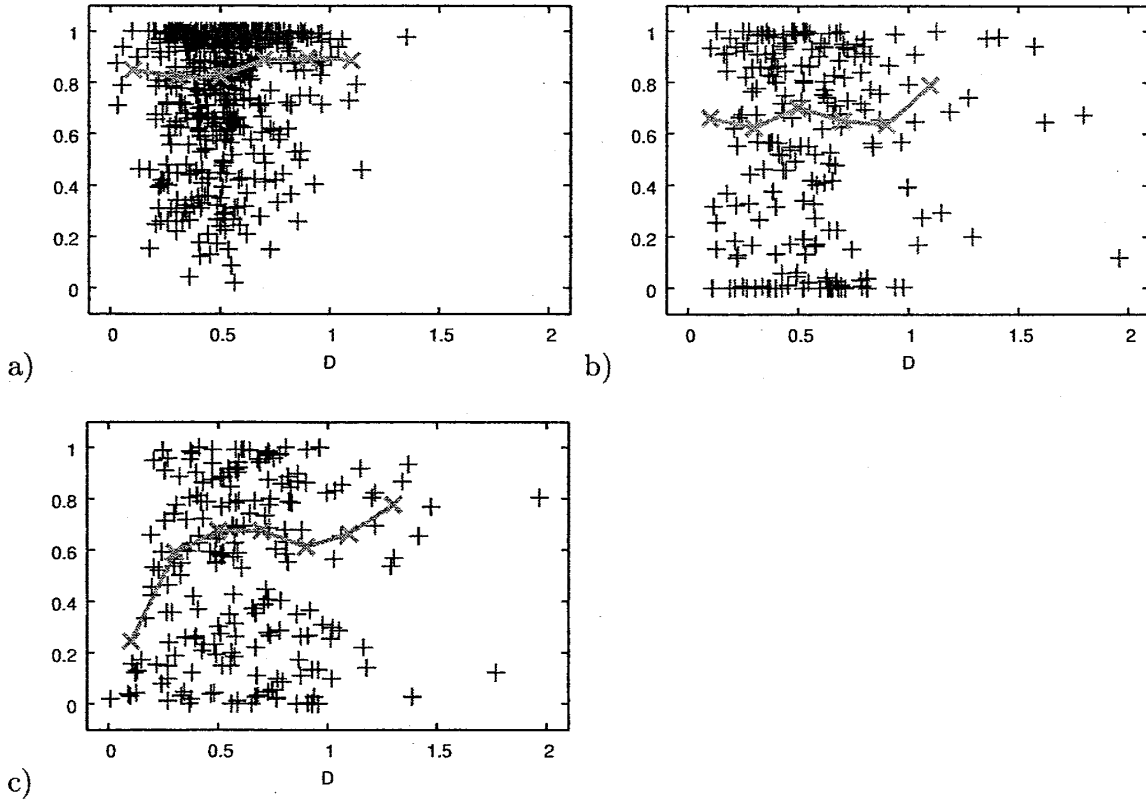


図 30: 遷移経路の多様性とベイスンボリュームの関係: 進化したネットワークについて、状態遷移の多様性を横軸に、通常の発生過程で実現する状態のベイスンボリュームを縦軸に示した。ベイスンボリュームは発生の初期条件をランダムに与えて、終状態が通常の発生とほぼ同じ状態 (内積  $> 0.8$ ) に落ち着く割合をカウントした。a)  $N_{target} = 0$ , b)  $N_{target} = 2$ , c)  $N_{target} = 4$ . サンプル数は a) 509, b) 206, c) 207

ば重なっている。拘束数 0 ではハミング距離  $D_{ij} > 5$  である細胞状態をもたないネットワークは約 9 割 (449/509) に及ぶ。 $N_{target} = 0$  の場合の自己フィードバックの結合度は、図 13 と同様の割合を示し、やはり細胞内ネットワークのポジティブフィードバックと細胞間ネットワークのネガティブフィードバックが多い。これらのことを考え合わせると  $N_{target} = 0$  の場合で得られたネットワークは、上述の設計したネットワークの様に自己フィードバックによる状態の生成が主に寄与していると考えられる。拘束数  $N_{target} = 2, 4$  の場合には、進化で得られたすべてのネットワークが、 $D > 5$  であるような状態を必ず持っている。拘束数をふやすと、ハミング距離の分布は二項分布から右側へ外れてくる。すなわち、遺伝子空間上でのちらばりが大きくなることを意味する。拘束数 4 の場合には、どのネットワークも二項分布から大きくはずれており、先ほどの自己フィードバックで作りこんだ状況からはかなり異なるといえる。

拘束数の違う進化間での、 $\{J_{ij}\}, \{J'_{ij}\}$  の促進的相互作用の割合を比較した結果を図 28 に示す。それぞれの場合をランダムに生成したネットワークのものと重ねて表示している。 $N_{target} = 0$  の場合にはランダムに生成したネットワークと同じ様に、2つのネットワークの間には特に相関は見られない。図 27 のハミング距離の分布を見たように、状態の多様化が



対角成分への依存が強く、非対角成分の進化的拘束が弱いことが原因と思われる。拘束数 4 では  $\{J_{ij}\}, \{J'_{ij}\}$  の相関が強く出ている。図 13 で示したように、この場合でも自己フィードバックは多いが、それ以外の非対角行列が重要になってくることを示している。

遷移経路の多様性 (D) を各進化について求めた結果が図 29 である。拘束数が増えるにつれ、分布が広がる傾向が見える。拘束数を増加させるにつれ、各遺伝子間の相関が増す。そのことによって状態の遷移過程が複雑化するためと考えられる<sup>7</sup>。通常発生のアトラクタのベイスンの広さと遷移の多様性の関係を図 30 に示す。横軸が遷移の多様性 (D)、縦軸は通常発生と相同な状態が得られた試行の割合。通常発生の状態との内積が  $> 0.8$  の場合に相同な状態と判定した。図の各点はそれぞれのネットワークを表している。遷移の多様性が同程度 (ピンは 0.2、サンプル数が  $> 5$  のピンのみ線で結んだ) のネットワークについて縦軸の値を平均した値が図の点線のグラフである。a) が  $N_{target} = 0$ , b) が  $N_{target} = 2$ , c) が  $N_{target} = 4$  で得られたネットワークについての結果である。 $N_{target} = 4$  では、より調節的なネットワーク (遷移パスの多様性が高い) ほど通常発生のベイスンが広い傾向があることを先ほど議論したが、その傾向は遺伝子拘束が弱い場合には見られない。分かりやすいように、細胞自律的な傾向の強い (遷移の多様性の値が非常に低い) ネットワークと調節的な傾向の強い (多様性が非常に高い) ネットワークのみを抜き出して、通常発生時のアトラクタのベイスンボリュームを計測した。図 31 が調節的なネットワーク、図 32 が細胞自律的なネットワークについて計測した結果である。初期条件をランダムに与えて発生を行い、その試行の終状態と通常発生の終状態との内積が 0.6 以上の場合に相同な状態と判定した。各ネットワークについて 200 回計測し、そのうち相同な状態に至った割合をベイスンボリュームとした。進化での遺伝子拘束数が  $N_{target} = 0$  の場合、細胞自律的なネットワークと調節的なネットワークのベイスンボリュームに差は見られない。遺伝子拘束数が大きくなると ( $N_{target} = 4$ )、細胞自律的なネットワークのベイスンボリュームの小さなネットワークの割合が増加する。 $N_{target} = 4$  では、細胞自律的なネットワークの方が通常発生の状態に至るための初期条件依存性が大きいことを示している。他方、 $N_{target} = 0$  では、細胞自律的、調節的という発生タイプの違いはベイスンボリュームの違いに影響していない。 $N_{target}$  の増加によって実現する細胞タイプが多様化し、表現型が複雑になることではじめて状態遷移の違いが意味をもってくると言える。

### 3.4 考察

#### -細胞自律的発生と調節的発生-

モデルの解析から、細胞自律的発生、調節的発生という違いを細胞状態の遷移の多様性の違いという形で見出すことができた。また、遷移経路の多様性の違いが発生初期の摂動に対する安定性と関係することが見出された。遺伝子拘束度の異なる進化について比較したところ、遷移経路の多様性と、初期条件変化に対する安定性との関係は拘束度が大きい場合にのみ見出された。拘束度の低い進化では、自己フィードバックによる状態の生成が主に寄与しているということがデータから推察された。他方、拘束度を上げた進化でみられた振る舞いはフィードバックのみでは説明することはできない。遺伝子の拘束数が多い、すなわち表

<sup>7</sup> 図 11, 15, 16 は  $N_{target} = 4$  での細胞状態の遷移過程の例だが、それらは段階的に状態が増加していき、発生途中でのみ表れる状態も見られる。 $N_{target} = 0$  の発生過程では、状態の増加の仕方はもっと単純化して、発生途中のみ使われる状態も減少する。

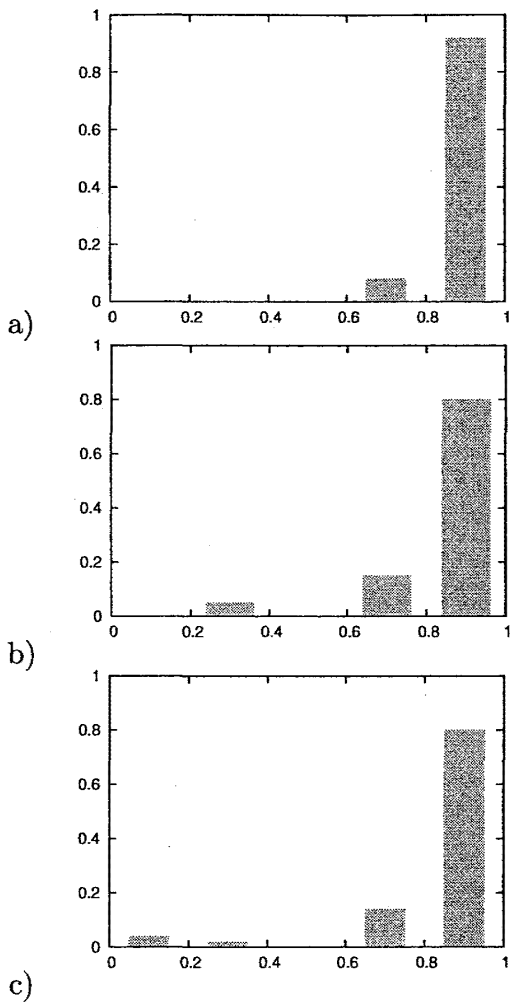


図 31: 調節的な発生をするネットワークのベイスンボリューム: 各拘束数で進化後に得られたネットワークの中から、遷移経路の多様性 (D) が大きい (調節的) ネットワーク (全ネットワークのうち上位 1 割) について、ベイスンボリュームを計った。複数のネットワークについて計測し、各値をとるネットワークの割合を示した。横軸がベイスンボリューム、縦軸がネットワークの割合。a)  $N_{target} = 0$ , (50/509), b)  $N_{target} = 2$ , (20/206), c)  $N_{target} = 4$ , (50/468)。括弧で示した数字は (計測に用いたネットワーク数)/(進化後の全ネットワーク数)

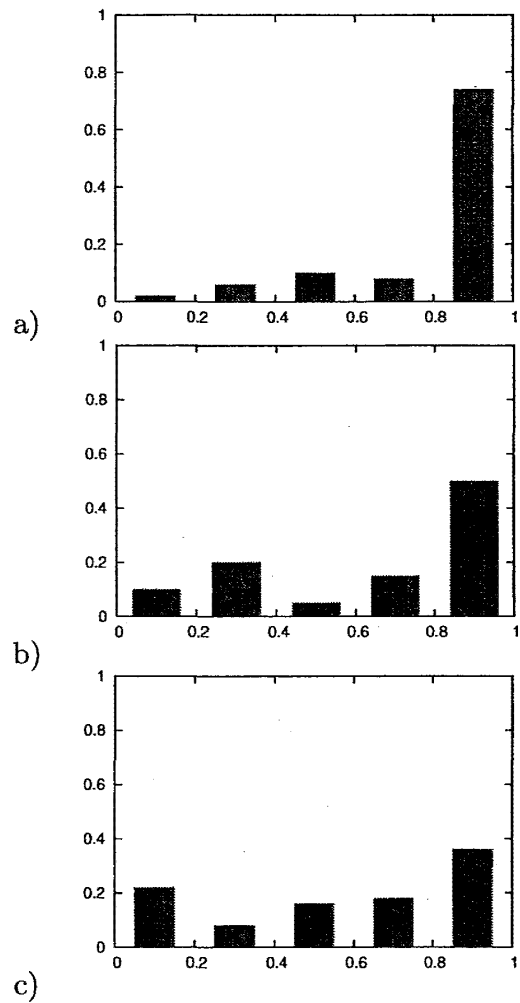


図 32: 細胞自律的な発生をするネットワークのベイスンボリューム: 各拘束数で進化後に得られたネットワークの中から、遷移経路の多様性 (D) が小さい (細胞自律的) ネットワーク (全ネットワークのうち上位 1 割) について、ベイスンボリュームを計った。複数のネットワークについて計測し、各値をとるネットワークの割合を示した。横軸がベイスンボリューム、縦軸がネットワークの割合。a)  $N_{target} = 0$ , (50/509), b)  $N_{target} = 2$ , (20/206), c)  $N_{target} = 4$ , (50/468)。括弧で示した数字は (計測に用いたネットワーク数)/(進化後の全ネットワーク数)

現型が複雑になるにつれて、より高次の遺伝子間相互作用が重要になってくるものと思われる。現時点では、細胞自律的および調節的、これら2つの発生過程の性質の違いはまだ十分にしか解析できていないので、その点については今後さらなる研究が必要である。細胞自律的、調節的なネットワークで見られた振る舞いとその生物学的な対応を表に示しておく。

	細胞自律的	調節的
遷移経路の多様性	低	高
初期条件変化に対する安定性	低	高

表 1: モデルでの細胞自律的発生と調節的発生の違い

	細胞自律的	調節的
細胞運命の決定様式	細胞系譜	細胞間相互作用
初期胚操作に対する安定性	低 (モザイク卵)	高 (調節卵)

表 2: 現実の生物に見られる細胞自律的発生と調節的発生の違い

今後解析すべきこととしては、進化前と進化後のネットワークについてネットワーク統計量の違いを解析したように、細胞自律的、調節的ネットワークについてもネットワーク統計量を解析するという方向性がある。現実の生物との統計的性質の比較も可能であり重要である。また、力学系的な性質としては遺伝子の不安定性の指標  $\mu_i$  の変化等を調べて行くことがその助けになると思われる。例えば、発生終了後の各細胞タイプについて  $\mu_i$ , ( $i \in 1, \dots, N_g$ ) を計り、遺伝子の不安定性の平均値  $\bar{\mu}$ , ( $\bar{\mu} = (1/N_g) \sum_i \mu_i$ ) で各細胞タイプの安定性とする。図 25,26 のように自己フィードバックで多数の細胞タイプを作った場合について、各細胞タイプの安定性を計ると、データは示さないが、細胞タイプの遷移図でより上流に属する細胞タイプが不安定性が高く、末端の細胞タイプは不安定性が低くなる。現実の生物の幹細胞システムでは、より上流細胞は幹細胞的で、末端は完全に分化した細胞である。幹細胞の方が細胞の状態は可塑的であり、完全に分化した細胞は容易には脱分化等の細胞状態変化をおこさない。このように、細胞タイプの遷移関係と細胞状態の安定性の関係性についてモデルと同様の振る舞いを示す例がある。一方、進化させたネットワークでこの関係性を調べると、幹細胞系のような傾向が見られる場合と、そのような傾向がない場合がある。細胞自律的、調節的といった性質と、この各細胞タイプの安定性が何か関係するのかも知れない。

細胞自律的発生と調節的発生は、進化的文脈および発生上の他の側面において、如何なる違いが存在するだろうか。その点について考察する。

多細胞生物の成体の形態学的特徴を決定する役割をもつ遺伝子はホメオティック遺伝子と呼ばれる。ホメオティック遺伝子として、ショウジョウバエの頭尾軸に沿った各分節の形態学的な特徴を決めている Hox 遺伝子群がよく知られている。この Hox 遺伝子群はショウジョウバエのゲノム上でクラスターをなしているが、そのゲノム内での各 Hox 遺伝子の並び順と頭

尾軸に沿った空間的な遺伝子発現順序が対応している colinearity と呼ばれる現象が知られている (図 33)。そして、広範な生物種の間で Hox 遺伝子群が保存されており、頭尾軸に沿った発現パターンも相同であることが近年の研究よりわかってきた [35], [7] (図 34)。colinearity の成立要因として次の様なシナリオが考えられる。多細胞生物の組織内で、拡散物質等を介した細胞間相互作用が存在している場合には、各細胞の置かれている環境条件はある程度の空間的相関がある。モルフォゲンの勾配にさらされている細胞群はその一例である。一方で、ゲノム内で近接する遺伝子でも、染色体の折りたたみ等の物理化学的性質による影響や同一のシスエレメントからの制御を受けることによって同様な発現制御を受ける場合があることが指摘されている [4], [14]。このようなゲノム内で近傍に位置する複数の遺伝子における発現制御の相関が組織内での空間的な遺伝子発現にマップされることで、ゲノム上の遺伝子の並びと組織内での空間的遺伝子発現パターンが関係しうる。その結果 colinearity が実現する。一度 colinearity が実現されると、今度は空間的発現パターン (表現型) を保持するという進化的な拘束がゲノム上の遺伝子の並びに及ぶことで、ゲノム上の遺伝子群が一つのクラスターとして進化的に保持されることが予想される。

しかし、この colinearity は常に成立するわけではなく、生物種によってはその原則から外れている例がある。strict な細胞系譜をもつことで知られる *C. elegans* では、空間的な Hox 遺伝子の発現はもっているものの、その遺伝子発現パターンは空間的に制御されているわけではなく、細胞系譜によって決まっている [10]。また、やはり初期発生が細胞自律的であるオタマボヤにおいては、ゲノム上に Hox クラスターが存在せず、Hox 遺伝子群はゲノム上に散在している [36]。これらの例から推察するに、細胞自律的な発生過程をもつ生物種では胚の各部に位置価を付与するという Hox の役割が実質的に失われつつあると考えられる。Hox の発現パターンが細胞自律的 (細胞系譜依存的) に制御されることで、colinearity に対する進化的な拘束が弱まっていることが予想される。多細胞生物の系統樹の広範な生物種にわたって、Hox クラスターが存在し、それら広範な生物種において colinearity が保たれていることと、空間的な細胞間相互作用が colinearity に進化的拘束を与えると予想されることから推察するに、まず、細胞間相互作用に依存的な発生過程が進化的に先に成立した可能性がある。そして、相互作用依存的な発生をする生物種の中から、細胞自律的な発生を行うようになる種が進化的に出現してきたのではないか。細胞自律的な発生を行う生物で、hox の空間的な発現パターンを保持しながらも colinearity の原則が崩れている事例は、このような進化的痕跡を表しているのではないか。これはあくまで仮説であり、現時点ではまだはっきりしたことはわからない。また、Davidson らは無脊椎動物に多く見られる細胞自律的な発生の方をむしろ祖先的形質であると推察している [11]。しかし、例えば無脊椎動物である線虫を例にとると、*C. elegans* は細胞自律的な発生をするが、同じ線虫の仲間でも *Acrobeloides nanus* では、発生初期には細胞が多分化能を有しており、調節的に細胞運命を決定していることが知られている [43]。このように、近縁種であってもその細胞運命の決定様式が自律的か調節的であるかは進化を通じて変化しうると考えられるため、脊椎動物、無脊椎動物というように完全に系統樹上の距離と対応づけられるかは疑問の余地が残る。

細胞自律的および調節的発生のどちらかが祖先的な発生過程だとすると、進化的な順序性はいかなる性質から帰結される現象なのだろうか。また、これら発生過程のどちらかを選択的に生存に有利にするような淘汰圧が存在する可能性もある。このような発生進化的な問いはまだほとんどが未解明な問題であり、本論文で構成することができたネットワークを用い

て、上記問題に取り組むことは非常に重要である。

#### -表現型可塑性 (phenotypic plasticity)-

表現型可塑性とは、生物を取り巻く環境が変化することによって、同一の遺伝子型から異なる表現型が出現する現象のことである [42]。例としては、バッタの相変移や、捕食者密度により原生動物の形態が変化するシクロモルフォシス等が知られている [5], [42]。力学系として考えて興味深い点は、一つの生物種の発生に複数のアトラクタ (ここでは表現型を意味する) が存在すること、およびそのアトラクタの選択が環境依存的に起こるということである。アトラクタの切替は表現型の大きな変化を引き起こしうるため、表現型可塑性は種の進化を考える上でも重要である。このような表現型可塑性と見做せる現象として、モデルでは、細胞の増加を早めたときに通常発生とは異なる新たな状態が出現することを見た。発生過程のどの状況でこれら異なる状態が選択されるのか等の解析を進めて行く必要がある。

#### -増殖と系のダイナミクス-

現実の生物では、状態の多様化や形態形成と細胞増殖はうまく同調して進んでいるはずである。しかし、形態形成等をモデル化する際、系の増殖を扱うことは理論的には困難であるため、増殖が系にもたらす影響についてはよく分かっていない。本論のモデルでは、増殖はモデルに組み込まれているものの、系の内部自由度とは独立したパラメータとして導入してあるため、増殖の変化によって系がどのように振る舞うかは解析可能である。増殖と系のダイナミクス (状態多様化、形態形成等) の絡み合うについても今後考えて行きたい。

#### -多重安定状態をもつシステムとして-

本論文を通して、細胞を多重安定状態をもつ系として捉え、潜在的に存在する状態のなかから特定の状態がどのように選択されるか、また、それが生物学的な文脈として如何に捉えることができるか等について議論してきた。そして、生物においては多重安定状態間に連関が存在し、その性質を議論することが必要であるという立場にたってきた。他方、多重安定状態をもつ系としてはランダムブーリアンネットワークやスピングラスがよく知られている [26], [29]。では、これらのモデルと多重安定状態間に関係性が埋め込まれたシステムでは如何なる相違が存在しているのだろうか。スピングラスの SK 模型でパリジ解は超計量性をもつことが知られている [34]。これも状態間の関係性のひとつであるが、例えばこのような量を計ることでシステムの特徴づけは可能であろうか。

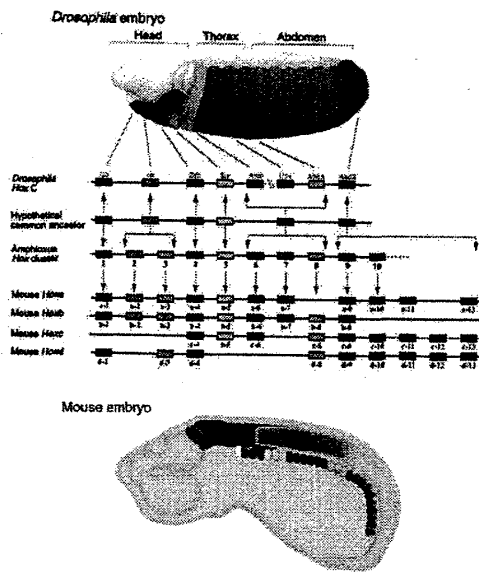


図 33: spacial colinearity( [6] より転載): 上側がショウジョウバエ胚、下側がマウス胚の空間的 Hox 遺伝子群の発現パターンである。真中は Hox クラスターでの各遺伝子の位置の模式図。Hox クラスター内の遺伝子の位置と胚における空間的遺伝子発現の対応が示されている。

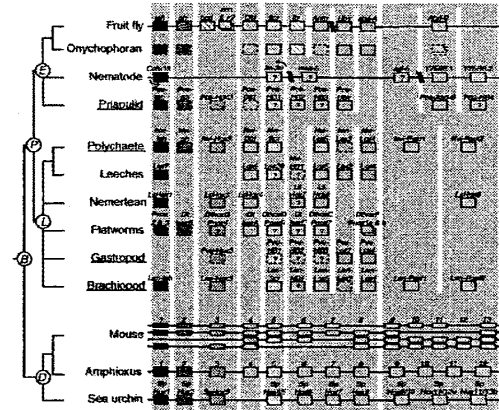


図 34: 系統間での hox 遺伝子群の保守性 ( [35] より転載): 多細胞生物の系統関係と各生物種がもつ Hox 遺伝子が示されている。

## 謝辞

私の研究活動は数多くの方の御厚意に支えられてきた。ここでその感謝の意を述べたい。先ず、柳田敏雄教授には駒場で研究を行う機会を与えていただいたことに感謝する。金子邦彦教授には、直接の指導教官として多大なご助言、ご指導を戴いた。また、理論研究に触れたこともなかった私に、寛大にもこのような研究機会を与えて下さったことは感謝に絶えない。

片岡直人、藤本仰一、立川正志、星野英一郎の各氏には本研究を遂行する上で、多くのご助言、御尽力を戴いた。彼らの協力なしには本論文を書き上げることはできなかった。深く感謝する。

研究環境を整えて下さった星野英一郎氏を始めとするスーパーユーザ諸氏に深く感謝する。研究室の院生諸氏、研究室 OB 諸氏、近隣研究室の方々、大阪大学の方々に感謝する。

私の意思を最大限尊重しここまで支えて下さった両親、兄、姉に深く感謝する。これまで私を支えて下さったすべての人に感謝する。

## References

- [1] B. Alberts et al. “*Molecular biology of the cell 4th ed.*”, Garland Science (2002)
- [2] U. Alon “*an Introduction to Systems Biology*”, Chapman & Hall/CRC (2006)
- [3] D.R. Angelini and T.C. Kaufman *Annu.Rev.Genet.*, 39, 95-119 (2005)
- [4] M. Barna et al. *Developmental Cell.*, 3, 499-510 (2002)
- [5] ブライアン K. ホール “*進化発生学*”, 工作舎 (2001)
- [6] <http://www.press.uchicago.edu/books/gee/carroll1.html>
- [7] S.B. Carroll “*形づくりと進化の不思議*”, 羊土社 (2003)
- [8] A. Ciliberto et al. *J.Cell.Biol.*, 163, 1243-1254 (2003)
- [9] M. Chaves et al. *J.Theor. Biol.*, 235, 431-449 (2005)
- [10] D. Cowing and C. Kenyon *Nature*, 25;382, 353-356 (1996)
- [11] E.H. Davidson *Development*, 113, 1-26 (1991)
- [12] C. Furusawa and K. Kaneko. *Bull. Math. Biol.*, 60, 659-687 (1998).
- [13] C. Furusawa and K. Kaneko. *J.Theor.Biol.*, 209, 395-416 (2001).
- [14] M. Gerard et al. *Genes Dev.*, 10, 2326-2334(1996).
- [15] S.F. Gilbert “*Developmental Biology 4th ed.*”, Sinauer Associates,Inc. (1994).
- [16] スティーブン J. グールド “*個体発生と系統発生*”, 工作舎 (1987).
- [17] R. H. Gomer. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2, 48-54 (2001).
- [18] T. Gregor et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102,51, 18403-18407 (2005).
- [19] J.B. Gurdon *Nature*, 336, 772-4. (1988)
- [20] P. Hogeweg *J. theor. Biol.*, 203, 317-333. (2000)
- [21] K. Kaneko. *Physica D*, 41, 137-172 (1990).
- [22] K. Kaneko and T. Yomo *Bull. Math. Biol.*, 59, 139-196 (1997).
- [23] K. Kaneko. and T. Yomo *J.Theor.Biol.*, 199, 243-256 (1999).
- [24] 金子 邦彦 “*生命とは何か*”, 東京大学出版会 (2003).

- [25] S.A. Kauffmann. *J.Theor. Biol.*, 22, 437-467 (1969).
- [26] S.A. Kauffmann. “*The origins of Order.*”, Oxford University Press, New York. (1993)
- [27] 倉谷 滋 “動物進化形態学”, 東京大学出版会 (2004)
- [28] F. Li et al. *PNAS*, 101, 4781-4786 (2004).
- [29] M. Mezard et.al. “*Spin Glass Theory and Beyond.*”, World Scientific (1987)
- [30] T. Mizuguchi and M. Sano *PRL*, 75, 5, 966-969 (2001).
- [31] N. Nakagawa and Y. Kuramoto. *Physica D*, 75, 74-80 (1994).
- [32] 小原 雄治 編 “線虫 1000 細胞のシンフォニー”, 共立出版 (1997).
- [33] I. Rafols et al. *Differentiation*, 67, 107-116 (2000).
- [34] R. Rammal et al. *Rev. Mod. Phys.*, 58, 765-787 (1986).
- [35] R. Rosa et al. *Nature*, 399, 772-776 (1999).
- [36] H.C. Seo et al. *Nature*, 431, 67-71 (2004).
- [37] G.M. Suel et al. *Nature*, 440, 545-550 (2006)
- [38] J.E. Sulston et al. *Dev. Biol.*, 100(1), 64-119 (1983).
- [39] A.M. Turing *Philos. Trans. Roy. Soc. London. B*, 237, 37-72 (1952).
- [40] J.J. Tyson et al. *Curr.Opin.*, 15, 221-231 (2003).
- [41] C.H. Waddington “*The Evolution of an Evolutionist.*”,  
Cornell University Press, Ithaca, NY.
- [42] M.J. West-Eberhard “*Developmental Plasticity and Evolution.*”,  
Oxford University Press, New York. (2003)
- [43] O. Wiegner and E. Schierenberg *Dev Biol.*, 205(1), 1-12 (1999).
- [44] L.Wolpert *J.Theor.Biol.*, 25, 1-47 (1969).